

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

DIOGO RICARDO BAZAN DUCATTI

**HIDRÓLISE ÁCIDA DE GALACTANAS PARA PRODUÇÃO
DE OLIGOSSACARÍDEOS E C-GLICOSÍDEOS: SEMI-
SÍNTESE DE *N*-ALQUIL E C-DIHIDROPIRIDINA
GLICOSÍDEOS**

CURITIBA

2009

DIOGO RICARDO BAZAN DUCATTI

**HIDRÓLISE ÁCIDA DE GALACTANAS PARA PRODUÇÃO
DE OLIGOSSACARÍDEOS E C-GLICOSÍDEOS: SEMI-
SÍNTESE DE *N*-ALQUIL E C-DIHIDROPIRIDINA
GLICOSÍDEOS**

Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação
em Bioquímica e Biologia Molecular, Setor de
Ciências Biológicas, Universidade Federal do
Paraná, como requisito parcial à obtenção do
título Doutor em Ciências – Área Bioquímica.

Orientador: Prof. Dr. Miguel Daniel Nosedá
Co-Orientador: Profa. Dra. Maria Eugênia R.
Duarte

CURITIBA

2009

AGRADECIMENTOS

A Deus e Santo Expedito, pela vida e proteção.

Aos meus orientadores Professores Miguel D. Nosedá e Maria Eugênia R. Duarte pela amizade, ensinamentos e principalmente pelo incentivo durante todos estes anos que contribuíram enormemente para minha formação científica.

Ao Professor Alessandro Dondoni por me receber muito bem na Universidade de Ferrara.

Ao Dr. Alessandro Massi pela amizade, paciência e ensinamentos que contribuíram enormemente para o trabalho e minha formação.

Ao Prof. Alan Gonçalves e Alexandre Orsato pelas discussões e sugestões durante a realização deste trabalho.

Aos meus colegas de laboratório: Alan, Adriano, Rosi, Juliana, Marco, Paula, Lu, Alexandre, Fran, Diego, Bianca, Mohammed, Andrea, Reham, Michele, Davide Mauro, Lisa, Alessandra e Omar pelas conversas, brincadeiras e ajuda no dia a dia.

Aos meus colegas da Química de Carboidratos: Ana, Lauro, Thales, Fernanda, Fhernanda, Vassoler, Elaine, Dirce e Andréa pelos cafés, materiais emprestados, conversas e brincadeiras.

Ao Sr. Paolo Formaglio pela ajuda com as análises de RMN na Universidade de Ferrara.

A Pós-graduação em Bioquímica e Biologia Molecular da UFPR.

As Bibliotecárias do setor de Ciências Biológicas da UFPR pela paciência e auxílio com os artigos científicos.

Ao CNPq (Bolsa Doutorado e taxa de bancada), Pronex Carboidratos, CAPES (Doutorado Sanduíche – PDDE) e Università di Ferrara pelo auxílio financeiro.

RESUMO

As algas vermelhas produzem polissacarídeos (agaranas e carragenanas) de grande interesse para a indústria alimentícia e química. O objetivo deste trabalho foi utilizar duas galactanas produzidas comercialmente em grandes quantidades para produção de oligossacarídeos e derivados com potencial aplicação no campo bioquímico, químico e farmacológico. Agarose e κ -carragenana foram submetidas a hidrólise ácida parcial (TFA 0,1 M, 65 °C) para promover a quebra seletiva das ligações 3,6-anidro alfa glicosídicas. Foram produzidos oligossacarídeos contendo unidades de 3,6-anidro-galactose na forma de aldeído hidratado no terminal redutor. Da Agarose foram obtidos a agarobiose e agarotetraose, enquanto que da κ -carragenana foram obtidos a κ -carrabiose e κ -carratetraose. Os oligossacarídeos foram purificados por cromatografia de filtração em gel e caracterizados através de RMN e ESI MS. A agarobiose e agarotetraose foram utilizadas no desenvolvimento de uma metodologia analítica de separação utilizando CLAE. Através deste método foi estimada a quantidade de di- e tetrassacarídeos produzidos pela hidrólise ácida parcial da Agarose em diferentes tempos. A Agarose demonstrou uma taxa rápida de hidrólise e em seis horas praticamente 50% do hidrolisado correspondia a di- e tetrassacarídeos. A κ -carrabiose, lactose e oligossacarídeos com diferentes graus de polimerização obtidos de κ -carragenana foram utilizados em reações de aminação redutiva com diferentes aminas alifáticas. A utilização de tampão borato pH 8,2 (MeOH/H₂O) foi eficiente em produzir os *N*-alquil glicosídeos em maiores rendimentos. Agarose e κ -carragenana foram utilizadas na semi-síntese de *C*-glicosídeos *building blocks* protegidos por grupos benzil e contendo a função aldeído. Estes BB apresentam uma unidade *C*-glicosídica de treofuranose derivada da 3,6-anidro-galactose, na estereoquímica D- ou L-. Um dos BB produzidos apresenta ainda um grupo sulfato. Foram semi-sintetizados três dissacarídeos e quatro monossacarídeos BB. O BB *C*-formil- α -L-treofuranosil foi utilizado na síntese do derivado raro 2,3-di-*O*-benzil L-treose através da oxidação de Baeyer-Villiger. O derivado benzilado da L-treose pode ser utilizado na síntese de nucleotídeos usados na construção de TNA. A reação de Hantzsch com três componentes utilizando os BB produzidos foi realizada utilizando L-prolina como catalisador para fornecer dihidropiridinas contendo um radical glicosil ligado através de uma ligação carbono-carbono. A versão assimétrica desta reação de Hantzsch organocatalisada utilizando os derivados D- e L- *C*-formil da treofuranose forneceu *C*-nucleosídeos enantiômeros de forma estereosseletiva (de > 95%).

Palavras-chave: Agarose. κ -carragenana. Oligossacarídeos redutores. *N*-alquil glicosídeos. *C*-glicosídeos *building blocks*. Reação de multicomponentes de Hantzsch. Organocatálise. Dihidropiridinas. *C*-nucleosídeos.

ABSTRACT

Red seaweeds are a good source of polysaccharides (agarans and carrageenans) for the food and chemical industries. In this light, oligosaccharides and their derivatives, with potential application in the biochemical, chemical and pharmacological areas, were prepared from agarose and κ -carragenan. They were submitted to partial acid hydrolysis (0.1 M TFA, 65 °C) to promote specific cleavage of 3,6-anhydro- α -galactopyranosyl linkages. This produced oligosaccharides containing 3,6-anhydro-galactose in the hydrated aldehyde form at the reducing end. Agarose gave rise to agarobiose and agarotetrose while κ -carrageenan gave κ -carrabiose and κ -carratetrose. These oligosaccharides were purified via gel filtration column chromatography and completely characterized by NMR spectroscopy and ESI MS. The neutral oligosaccharides agarobiose and agarotetrose were used as standards to develop an HPLC separation method. The kinetics of partial hydrolysis of agarose were determined by quantification of di- and tetrasaccharide production. κ -Carrabiose, lactose, and a depolymerized κ -carrageenan were used as substrates in reductive amination reactions to produce *N*-alkyl glycosides, a borate buffer pH 8.2-MeOH/H₂O solvent being utilized to synthesize them in good yield. Also, in order to produce two sets of C-glycosyl building blocks, the commercial galactans were employed. These were a set of *O*-benzyl protected aldehydes containing a threofuranosyl unit in either the D- or L-enantiomeric form, and eventually bearing a sulfate group in their structure. Produced were three disaccharides and four monosaccharides building blocks. The 2,3-Di-*O*-benzyl-L-threofuranose derivative was produced by Baeyer-Villiger oxidation of the benzylated C-formyl- α -L-threofuranosyl building block. The main interest in the production of 2,3-Di-*O*-benzyl-L-threofuranose derivative was for its use as starting material for synthesis of non-natural nucleotides and subsequent generation of (3'→2')- α -L-threose nucleic acid (TNA). The three-component (3CR) Hantzsch reaction of carbohydrate building blocks was carried out with L-proline catalysis to afford dihydropyridine C-glycoconjugates. The asymmetric version of the L-proline-catalyzed Hantzsch reaction, of either C-formyl α -L or α -D-threofuranoside building block yielded a pair of biologically relevant α -threofuranose C-nucleoside enantiomers in a completely stereoselective manner (de > 95%).

Key words: Agarose. κ -carrageenan. Reducing oligosaccharides. *N*-alkyl glycosides. C-glycoside building blocks. Multicomponent Hantzsch reaction. Organocatalysis. Dihydropyridines. C-Nucleosides.

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

Ac – Acetil

Ac₂O – Anidrido Acético

AcCl – Cloreto de acetila

AcOEt – Acetato de Etila

AcOH – Acido Acético

AG1 – Agar-Agar Vetec

AG2 – Agarose Sigma-Aldrich

AG3 – Agarose Low Melting Point Invitrogen

Ar – Aromático

BB – Building Blocks

BMM – Borano Metil Morfolina

Bn – Benzil

BnBr – Brometo de Benzila

BuOH – *n*-Butanol

CC₅₀ – Concentração Citotóxica 50%

CCD – Cromatografia em Camada Delgada

CG-EM – Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de massa

CI₅₀ – Concentração Inibitória 50%

CLAE – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

CLG – Cromatografia Líquida Gasosa

COSY – Correlation Spectroscopy

DDQ – 2,3-Dicloro-5,6-diciano-1,4-benzoquinona

DHPs – Dihidropiridinas

DMF – Dimetil Formamida

DMSO – Dimetil Sulfóxido

ELS – Evaporative Light-Scattering

ESI MS – Electrospray Ionization Mass-Spectrometry

Et₂O – Dietil Éter

Et₃N – Trietilamina

Et₃SiH – Hidreto de Trietil Silano

EtOH – Etanol

EtSH – Etanotiol

HMQC – Heteronuclear Multiple Quantum Correlation Spectroscopy

HOMO – Highest Occupied Molecular Orbital

Hz – Hertz

iNOS – Inducible Nitric Oxide Synthase

i-Pr₂O – Éter Isopropílico

i-PrOH – Isopropanol

i-Prop – Isopropil

J – Constante de Acoplamento

K12 – *N*-dodecil glicosídeo derivado de Kappa-carragenana

K14 – *N*-tetradecil glicosídeo derivado de Kappa-carragenana

K5 – *N*-pentil glicosídeo derivado de Kappa-carragenana

K7 – *N*-heptil glicosídeo derivado de Kappa-carragenana

K9 – *N*-nonil glicosídeo derivado de Kappa-carragenana

KWS – Polissacarídeos Solúveis Obtidos de *Kappaphycus alvarezii*

Lit. – Literatura

LUMO – Lowest Unoccupied Molecular Orbital

MALDI-TOF – Matrix-Assisted Laser-Desorption Time Of Flight

MCPBA – Ácido Meta Cloroperbenzóico

Me – Metil

MeCN – Acetonitrila

MeOH – Metanol

NADH – Reduced Nicotinamide Adenine Dinucleotide

n-But – *n*-Butil

Nu – Nucleófilo

PCC – Clorocromato de Piridínio

Ph – Fenil

RCMs – Reações de Multicomponentes

RMCA's – Reações de Multicomponentes Assimétricas

RMN – Ressonância Magnética Nuclear

SIDA – Síndrome da Imunodeficiência Adquirida

t. a. – Temperatura Ambiente

TBS – Tributyl Silano

TFA – Ácido Trifluoracético

TfOMe – Triflato de Metila

THF – Tetrahydrofurano

TMS – Trimethyl Silano

TMSOTf – Triflato de trimethylsilil

TNA – α -L-Treose Nucleic Acid

TNF α – Tumor Necrosis Factor α

TOCSY – Total Correlation Spectroscopy

UV – Ultravioleta

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	01
1.1 Galactanas de algas vermelhas	02
1.2 Oligossacarídeos obtidos a partir de galactanas	03
1.3 C-glicosídeos: propriedades biológicas e métodos de síntese	07
1.4 Reações de multicomponentes	14
1.5 Organocatálise	20
1.6 Dihidropiridinas: propriedades farmacológicas e síntese	27
2. OBJETIVOS	34
2.1 Objetivos gerais	34
2.2 Objetivos específicos	34
3. MATERIAL E MÉTODOS	35
3.1 Obtenção dos polissacarídeos	35
3.1.1 Obtenção das fontes de Agarose 3	35
3.1.2 Obtenção da κ -Carragenana 4 (KWS)	35
3.2 Métodos analíticos gerais	36
3.2.1 Cromatografia em sílica	36
3.2.2 Determinação da rotação ótica	36
3.2.3 Determinação do teor de sulfato	36
3.2.4 Determinação da composição monossacarídica	37
3.2.5 Análise de espectrometria de massa	37
3.2.6 Análise por ressonância magnética nuclear (RMN)	38
3.3 Obtenção dos oligossacarídeos	38
3.3.1 Obtenção da agarobiose 82 e agarotetraose 83	38
3.3.2 Obtenção da κ -carrabiose 84 e κ -carratetraose 85	39
3.4 Análise por CLAE da formação de agarobiose e agarotetraose	39
3.5 Ensaio de atividade antiherpética	40
3.6 Síntese e semi-síntese dos derivados glicosídeos	40
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES	68
4.1 Análise da Agarose e κ -Carragenana utilizada no trabalho	68
4.2 Obtenção de agarobiose e agarotetraose a partir da Agarose	72
4.3 Obtenção de κ -carrabiose e κ -carratetraose a partir da κ -Carragenana	76
4.4 Produção de agarobiose e agarotetraose a partir da hidrólise ácida parcial da agarose: monitoramento por CLAE	79
4.5 Síntese de <i>N</i> -alquil glicosídeos sulfatados	83
4.6 Semi-síntese de C-glicosídeos a partir da Agarose e κ -Carragenana	91
4.7 Síntese de dihidropiridinas glicosiladas através da reação de multicomponentes de hantzsch	105
4.8 Síntese de dihidropiridinas glicosiladas assimétricas através da reação de multicomponentes de hantzsch	111
5. CONCLUSÕES	115
6. REFERÊNCIAS	117
ANEXOS	130

1. INTRODUÇÃO

Este trabalho foi desenvolvido no período de março de 2005 a fevereiro de 2009 no laboratório de química de carboidratos de algas marinhas, sendo uma parte dos experimentos realizados no departamento de química da Universidade de Ferrara – Itália (Novembro/07 – Agosto/08).

Esta tese teve como interesse geral o estudo de polissacarídeos de algas vermelhas. Estes biopolímeros podem ser obtidos comercialmente a partir de determinadas espécies de algas marinhas em grandes quantidades. Devido às características únicas que estes polissacarídeos apresentam, foram desenvolvidas metodologias de degradação para produção de oligossacarídeos e derivados. Foram relatados o desenvolvimento de uma metodologia para avaliação da hidrólise e a utilização dos produtos de degradação na síntese de *N*-alquil e *C*-glicosídeos com potencial atividade biológica.

A seguir, alguns tópicos são descritos sucintamente com o objetivo de fornecer as informações mais relevantes para o melhor entendimento do trabalho desenvolvido.

1.1 GALACTANAS DE ALGAS VERMELHAS

Relatos indicam a comercialização de extratos de algas marinhas no Japão desde o século XVII e na Europa a partir dos meados do século XVIII (PERCIVAL; McDOWELL, 1967). Nas últimas décadas a produção de polissacarídeos obtidos de algas marinhas se tornou um negócio altamente lucrativo e no final do século passado movimentou aproximadamente 310 milhões de dólares (VAN de VELDE, 2002). Dentre os polissacarídeos comercializados, as galactanas obtidas de algas vermelhas (Rhodophyta) apresentam grande destaque.

Estes biopolímeros apresentam uma estrutura dissacarídica repetitiva constituída de unidades de (1→3)-β-D-galactopiranosose e (1→4)-α-galactopiranosose (Figura 1). As galactanas são classificadas de acordo com a estereoquímica das unidades 4-O-ligadas em agaranas **1** (enantiômero L-) e carragenanas **2** (enantiômero D-). Frequentemente encontra-se nas unidades *alfa* o derivado anidro da galactose **3**, **4** e **5** (PAINTER, 1982). A estrutura básica e repetitiva das galactanas é geralmente modificada por diferentes tipos de substituintes, tais como O-sulfato, O-metil, O-glicosil e 4,6-O-(1'-carboxietilideno) (CRAIGE, 1990).

As agaranas são utilizadas para confecção de cápsulas, material para moldes dentários, base para cosméticos e como agente antidessecante e espessante pela indústria alimentícia. A agarose purificada é utilizada em experimentação bioquímica como gel para eletroforese, cromatografia e suporte para o cultivo de microorganismos e células (RAVEN; EVERT; EICHORN, 1996). As carragenanas são utilizadas como estabilizantes de emulsão, espessantes e geleificantes (RENN, 1997).

Recentemente, as galactanas sulfatadas tem chamado atenção devido a uma série de propriedades biológicas. A presença de grupos O-sulfato permite que estes biopolímeros mimetizem as glicosaminoglicanas e interfiram nos eventos de reconhecimento célula – hospedeiro. Atividades contra o vírus da herpes (tipo I e II) (DUARTE *et al.*, 2004) e da dengue tem sido relatadas (TALARICO *et al.*, 2005). Carragenanas sulfatadas mostraram uma capacidade de inibir o crescimento e a

invasão de duas linhagens de *Plasmodium falciparum*, o protozoário causador da malária, a eritrócitos humanos (ADAMS; SMITH, 2005).

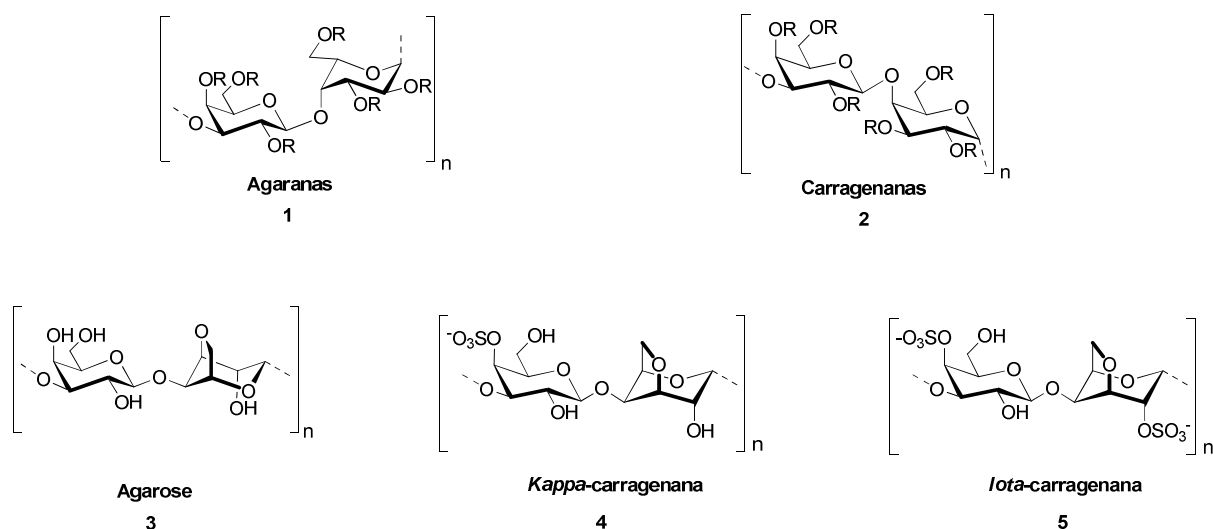


FIGURA 1 - ESTRUTURAS DE GALACTANAS

Considerando os padrões de sulfatação das unidades de β -D-galactopiranosse, as carragenanas são denominadas com letras gregas. Estes nomes, mesmo não seguindo a nomenclatura específica para carboidratos, são amplamente aceitos e utilizados no comércio, artigos científicos e legislação (De RUITER; RUDOLPH, 1997). As agaranas não possuem um sistema de nomenclatura como este.

1.2 OLIGOSSACARÍDEOS OBTIDOS A PARTIR DE GALACTANAS

Oligossacarídeos de galactanas podem ser obtidos através de hidrólise ácida parcial (YU *et al.*, 2002) ou enzimática (GUIBET *et al.*, 2006). Algumas bactérias de ambiente marinho produzem enzimas capazes de degradar galactanas de algas

vermelhas. As enzimas são classificadas de acordo com a especificidade por agaranas e carragenanas em agarases e carragenases respectivamente. A atividade enzimática é dependente do padrão de substituição do polissacarídeo (De RUITER; RUDOLPH, 1997).

As agarases descritas são capazes de hidrolisar a ligação *alfa* (YOUNG; BHATTACHARJEE; YAPHE, 1978) ou *beta* (LAHAYE *et al.*, 1989) da agarana (Figura 2). As α -agarases produzem oligossacarídeos contendo unidades de 3,6-anidro-L-galactose, na forma de seu aldeído hidratado, como terminal redutor. Estes oligossacarídeos são denominados agaro-oligossacarídeos **6**. As β -agarases produzem oligossacarídeos denominados neoagaro-oligossacarídeos **7**, contendo unidades de D-galactose como terminal redutor (Figura 2).

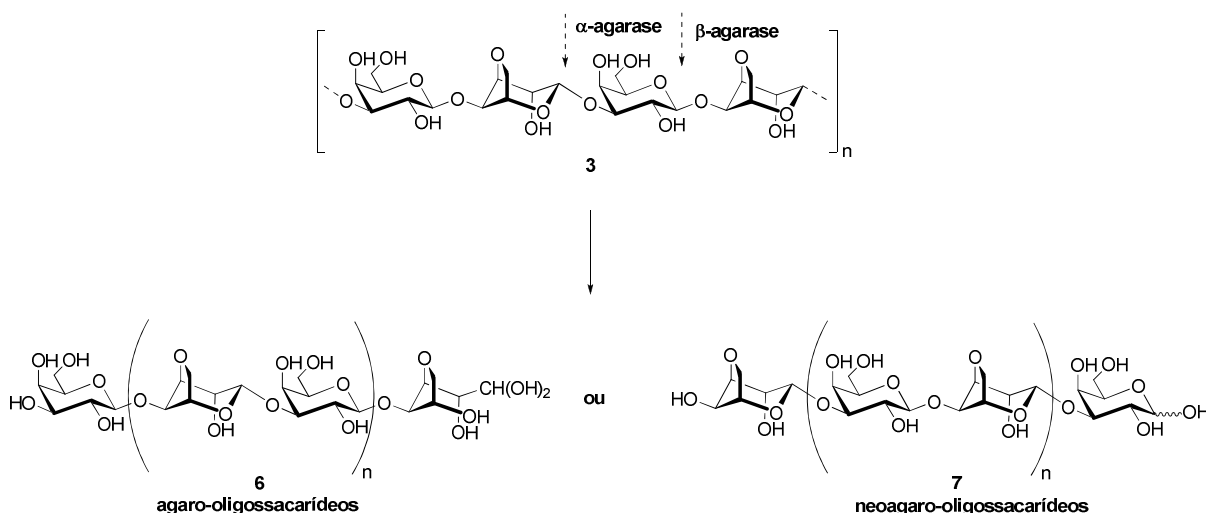


FIGURA 2 – HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DA AGAROSE

Para as carragenanas, são descritas apenas β -carragenases que tem na *Kappa*- **4** e *Iota*-carragenana **5** seus principais substratos.

A hidrólise ácida parcial de galactanas permite a quebra seletiva das ligações *alfa* envolvendo as unidades de 3,6-anidro-galactose. Devido à instabilidade destes resíduos em meio ácido, oligossacarídeos com número de unidades ímpares **8** e

pares **6** podem ser isolados (Figura 3). Uma alternativa bastante utilizada para preservar o resíduo anidro da galactose é associar a hidrólise ácida com agentes redutores (USOV; ELASHVILI, 1991) ou oxidantes (PENMAN; REES, 1973), transformando a 3,6-anidro-galactose no seu derivado galactitol ou galactônico respectivamente. Grupos O-sulfato e 4,6-O-(1'-carboxietilideno) são resistentes na maioria das condições hidrolíticas utilizadas.

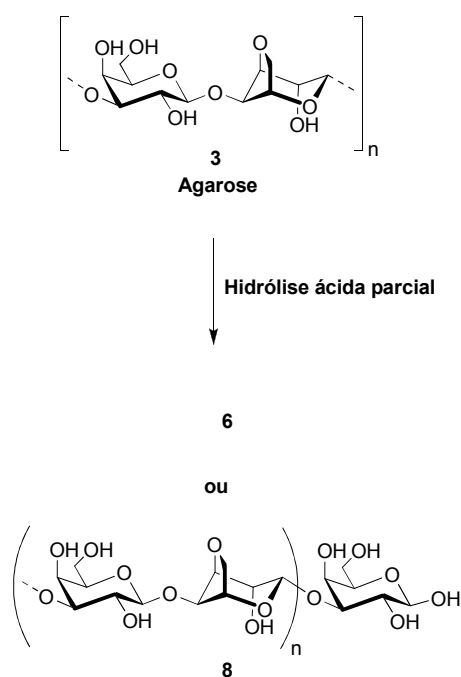


FIGURA 3 – HIDRÓLISE ÁCIDA PARCIAL DA AGAROSE

A produção de oligossacarídeos a partir de galactanas de algas vermelhas tem ganhado destaque devido à variedade de atividades biológicas que estas moléculas tem apresentado. Agaro-oligossacarídeos **6** são capazes de diminuir a produção da citocina $\text{TNF}\alpha$ (fator de necrose tumoral *alfa*) e a expressão de óxido nítrico sintase induzível (iNOS), uma enzima associada à produção de NO na célula (KOBAYASHI *et al.*, 2003; ENOKI *et al.*, 2004). Dessa forma, agaro-oligossacarídeos apresentam propriedades antiinflamatória e anti-alérgica, uma vez que o NO e $\text{TNF}\alpha$ estão relacionados com a resposta inflamatória. Propriedades carcinostática e de

inibição da apoptose foram também relatadas. Estas atividades foram relacionadas a um produto de metabolização das unidades de 3,6-anidro-galactose. Além disso, oligossacarídeos de galactanas tem mostrado atividade antioxidante intracelular bem como, capacidade de aumentar a viabilidade de células em cultura (YUAN *et al.*, 2005; CHEN; YAN, 2005).

As galactanas podem ser degradadas a oligossacarídeos naturalmente sulfatados, contendo um padrão de sulfatação conhecido e derivado do polissacarídeo de origem. Recentemente, oligossacarídeos sulfatados e seus derivados tem demonstrado uma série de atividades biológicas, tais como: antiviral (KATSURAYA *et al.*, 1999), antitumoral (YUAN *et al.*, 2006), antiinflamatória (SANDERS *et al.*, 1999), anticoagulante (WALL *et al.*, 2001) e antiangiogênica (KASBAUER; PAPER; FRANZ, 2001). Estas atividades não estão apenas relacionadas com o grau de sulfatação da porção glicídica, mas sobretudo, com a regioquímica e estereoquímica dos grupos sulfatos.

Neste contexto, oligossacarídeos sulfatados obtidos de carragenanas mostraram atividades antitumoral *in vivo* e *in vitro*, além de uma capacidade de inibição da angiogênese (HAIJIN; XIAOLU; HUASHI, 2003; CHEN *et al.*, 2007). A atividade antitumoral e antiangiogênica de carboidratos sulfatados está relacionada com a inibição da enzima heparanase – responsável pela degradação de glicosaminoglicanos que leva ao desarranjo da matriz extracelular e liberação de fatores de crescimento (NAGGI *et al.*, 2005; LEVY-ADAM *et al.*, 2005). Outra possibilidade é o bloqueio da ligação dos fatores de crescimento com seus respectivos receptores (GUERRINI *et al.*, 2002). A interação entre carboidratos sulfatados e proteínas é a principal razão que explica as atividades antiviral, antiinflamatória e anticoagulante.

Um exemplo desta interação é a atividade antiviral de carboidratos sulfatados junto aos vírus da herpes tipo 1 e 2 (HSV-1 e HSV-2). Estes vírus ligam-se às células através de interações entre glicoproteínas do envelope viral (gB e/ou gC) com o heparan sulfato presente na superfície celular. Após essa primeira interação, uma terceira glicoproteína viral (gD), interage com um ou mais receptores específicos, resultando na fusão do envelope viral com a membrana celular (SHUKLA *et al.*, 1999). Além da importância dos grupos sulfato nesta interação, é

relatado que porções hidrofóbicas poderiam auxiliar na interação carboidrato sulfatado – proteínas virais (HOSOYA *et al.*, 1991). Gonçalves *et al.*, (2007) sintetizaram alquil éteres derivados de oligossacarídeos sulfatados obtidos a partir de *Kappa*-carragenana. O objetivo era o desenvolvimento de moléculas contendo um padrão de sulfatação conhecido derivado da galactana e com grupos hidrofóbicos. Katsuraya *et al.*, (1999) sintetizaram alquil-glicosídeos sulfatados a partir de oligossacarídeos de laminarana, β -D-glucopiranosose (1 \rightarrow 3) ligada, com alta atividade anti-SIDA. O efeito antiviral aumenta com o índice de sulfatação e com a hidrofobicidade proporcionada pelo radical alquila ligado. A entrada do vírus da SIDA na célula é provavelmente inibida devido a interações entre o oligossacarídeo sulfatado e a glicoproteína gp120, rica em cargas positivas e responsável pela adsorção do vírus na superfície celular.

Devido ao amplo potencial dos oligossacarídeos de galactanas e seus derivados na produção de compostos bioativos, o desenvolvimento de novas metodologias de obtenção (ENOKI *et al.*, 2007) e avaliação do processo hidrolítico (KAZLOWSKI; PAN; KO, 2008; CHEN *et al.*, 2004) tem sido desenvolvidas. Estas metodologias utilizam cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), uma técnica muito eficiente na análise de carboidratos. Cromatografia de gel filtração e afinidade foram utilizadas. Os oligossacarídeos foram detectados diretamente por índice de refração ou *evaporative light-scattering* (ELS). Outro modo de detecção utilizado consistiu na derivatização dos oligossacarídeos através de aminação reductiva e detecção por UV.

1.3 C-GLICOSÍDEOS: PROPRIEDADES BIOLÓGICAS E MÉTODOS DE SÍNTESE.

C-Glicosídeos são análogos de carboidratos que possuem um átomo de carbono substituindo o oxigênio envolvido na ligação glicosídica. (Figura 4) (NICOTRA, 1997). A presença da ligação carbono-carbono envolvendo o carbono anomérico do anel piranosídico ou furanosídico, confere aos C-glicosídeos uma maior resistência à hidrólise química e enzimática.

O interesse em C-glicosídeos começou a ser despertado na década de 70 a partir da observação de interessantes propriedades antivirais, antitumorais e antibacterianas de alguns C-nucleosídeos **9** obtidos de microorganismos (Figura 4) (GUTOXSKI *et al.*, 1973; KUSAKABE *et al.*, 1972). Nas últimas décadas o aumento do conhecimento dentro da glicobiologia tem mostrado a importante função de carboidratos em vários eventos de reconhecimento celular (VARKI, 1993). A participação ativa de carboidratos é comprovada numa série de eventos importantes para os seres vivos, tais como: desenvolvimento neuronal (BULOW; HOBERT, 2006), crescimento tumoral e metástase (FUSTER; ESKO, 2005), inflamação (PARISH, 2006), invasão viral e bacteriana (SHUKLA *et al.*, 1999), resposta imune (RUDD *et al.*, 2001) e fertilização (DIEKMAN, 2003). Dessa forma, vem crescendo o interesse em moléculas capazes de mimetizar as funções dos carboidratos – os chamados glicomiméticos. Neste campo, o potencial dos C-glicosídeos é imensurável devido às possibilidades de atuação como inibidores de enzimas envolvidas no metabolismo de carboidratos e como análogos glicídicos estáveis capazes de interferir numa série de eventos celulares.

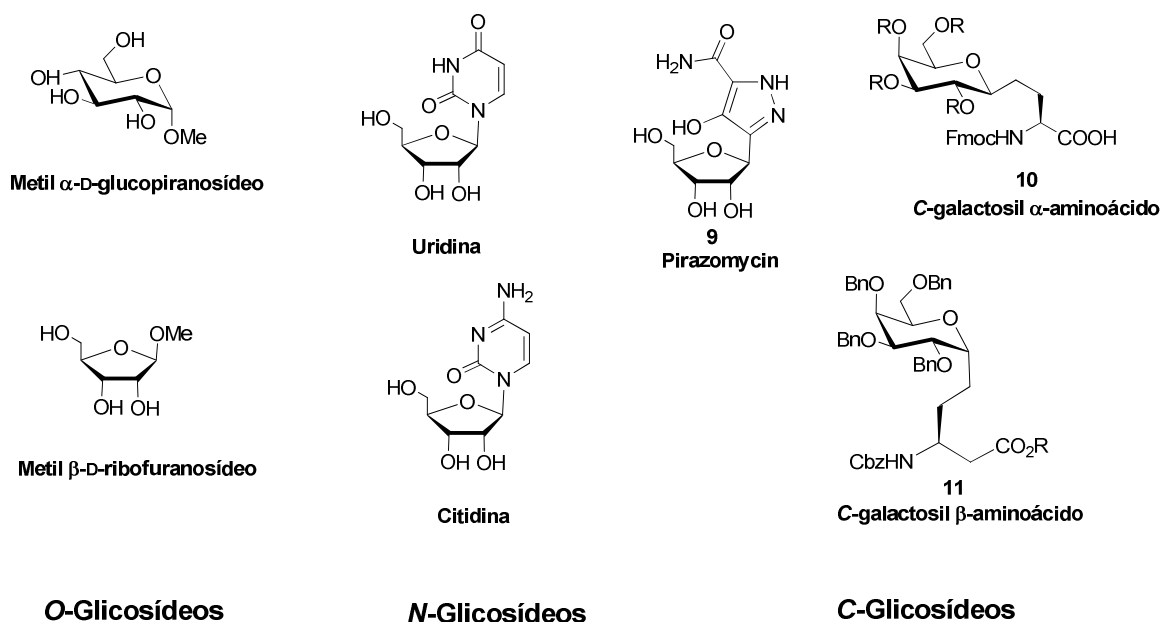


FIGURA 4 – ESTRUTURA DE GLICOSÍDEOS

Devido a sua importância e estrutura química, alguns C-glicosídeos são agrupados em classes. São exemplos os C-nucleosídeos **9** e C-glicosil aminoácidos **10** e **11**. Os C-nucleosídeos são heterociclos glicosilados que possuem o carbono anomérico ligado ao anel heterociclo através de uma ligação carbono-carbono (HANESEAN; PERNET, 1976). Os C-glicosil aminoácidos são compostos que apresentam um grupo aminoácido ligado diretamente, ou através de uma cadeia carbônica, ao carbono anomérico de uma unidade açúcar (DONDONI; MARRA, 2000). C-Glicosil *alfa* (BERTOZZI; HOEPRICH; BEDNARSKI, 1992) **10** e *beta* (PALOMO *et al.*, 2002) **11** aminoácidos tem sido sintetizado. Estes compostos podem ser utilizados como blocos de construção (*building blocks*) para síntese de C-glicopeptídeos e C-glicoproteínas, que possuiriam propriedades farmacocinéticas diferentes dos seus respectivos análogos O-glicosilados.

Nos primeiros trabalhos descrevendo a síntese de C-glicosídeos o interesse foi meramente acadêmico. Hurd e Bonner (1945) obtiveram os primeiros C-glicosídeos através da reação do cloreto de tetraacetil- α -D-glucopiranosil **12** com diferentes compostos de Grignard (Esquema 1). Derivados *alfa* e *beta* da glucose **13** foram obtidos em diferentes proporções.



ESQUEMA 1 – SÍNTESE DE C-GLICOSÍDEOS ATRAVÉS DE REAÇÕES DE GRIGNARD

A síntese de C-glicosídeos ganhou grande impulso na década de 80 a partir da observação de que vários produtos naturais, como os macrolídeos *Palytoxin* (UEMURA *et al.*, 1980) **14** e *Spongistatin 1* (PATERSON; KEOWN, 1997) **15** (Figura 5), são estruturalmente relacionados aos C-glicosídeos. Vários laboratórios de

síntese embarcaram em projetos visando o desenvolvimento de C-glicosídeos (NICOTRA, 1997; LEWIS; CHA; KISHI, 1982). A partir deste interesse, novos e melhores procedimentos de síntese de C-glicosídeos foram desenvolvidos, com grande ganho no entendimento das reações em relação a estereoquímica.

Na síntese de C-glicosídeos geralmente se utiliza um derivado do açúcar de interesse como doador glicosil. No Esquema 2 (p. 12) pode-se observar um pequeno resumo com alguns exemplos de doadores glicosil e rotas utilizadas na síntese de C-glicosídeos (DU; LINHARDT; VLAHOV, 1998; BEAU; GALLAGHER, 1997). As estratégias de C-glicosilação, na sua grande maioria, exploram o caráter eletrofílico do carbono anomérico do doador glicosil. A reação da função aldeído de **16** com reagentes organometálicos (YOKOYAMA *et al.*, 1997) ou de Wittig (KHAN; AHMED; SCHIDT, 1996) leva a formação dos intermediários **17** e **18**, respectivamente. Após adição nucleófila da hidroxila livre ao carbono anomérico ocorre a formação do C-glicosídeo.

Glicosil haletos **20** são bons doadores glicosil que podem reagir com carbânions. O tratamento com ácidos de Lewis (LETEUX; VEYRIERES, 1994) dos doadores glicosil reforçam ainda mais o caráter eletrofílico do carbono anomérico. Este tratamento origina um intermediário carbocátion estável **21** que pode reagir facilmente com um nucleófilo. Esta reação pode ser iniciada a partir de glicosil haletos **19**, acetatos e aldoses **20**. Quanto melhor o grupo abandonador, mais favorável é a reação. No caso das piranoses, o nucleófilo ataca o carbono anomérico pelo lado oposto ao do par iônico formado com o oxigênio piranosídico (LEWIS; CHA; KISHI, 1982). No caso das furanoses, o efeito anomérico não exerce clara influência. Os resultados estereoquímicos das reações são menos previsíveis e fortemente influenciados pelas condições experimentais como temperatura e solvente (NICOTRA, 1997).

Glicals (TOSHIMA *et al.*, 1996) **24**, lactonas (HILDBRAND *et al.*, 1997) **25** e 1,2-anidro açúcares (LEEUEWENBURGH *et al.*, 1997) **26** são também utilizados como doadores glicosil na síntese de C-glicosídeos.

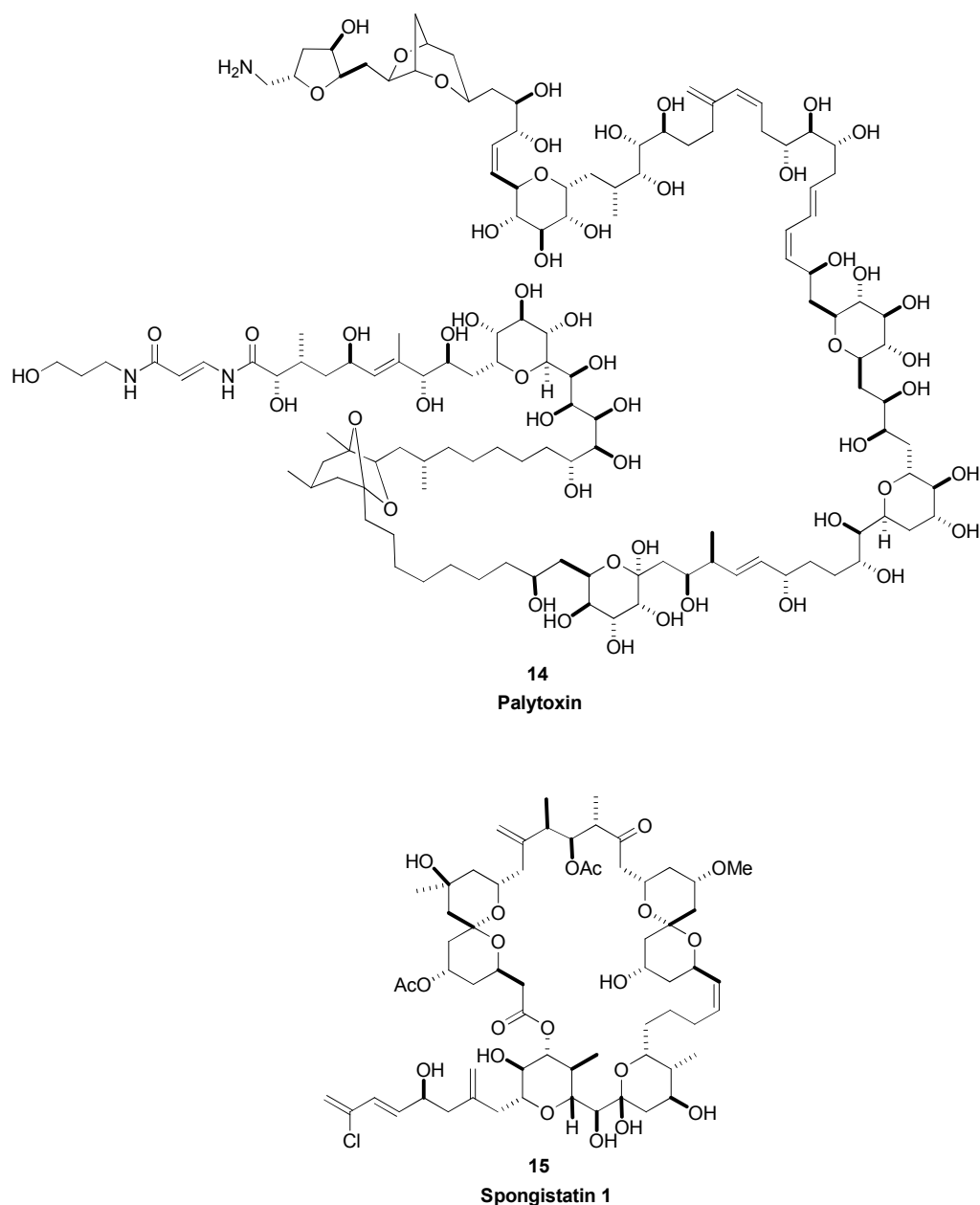
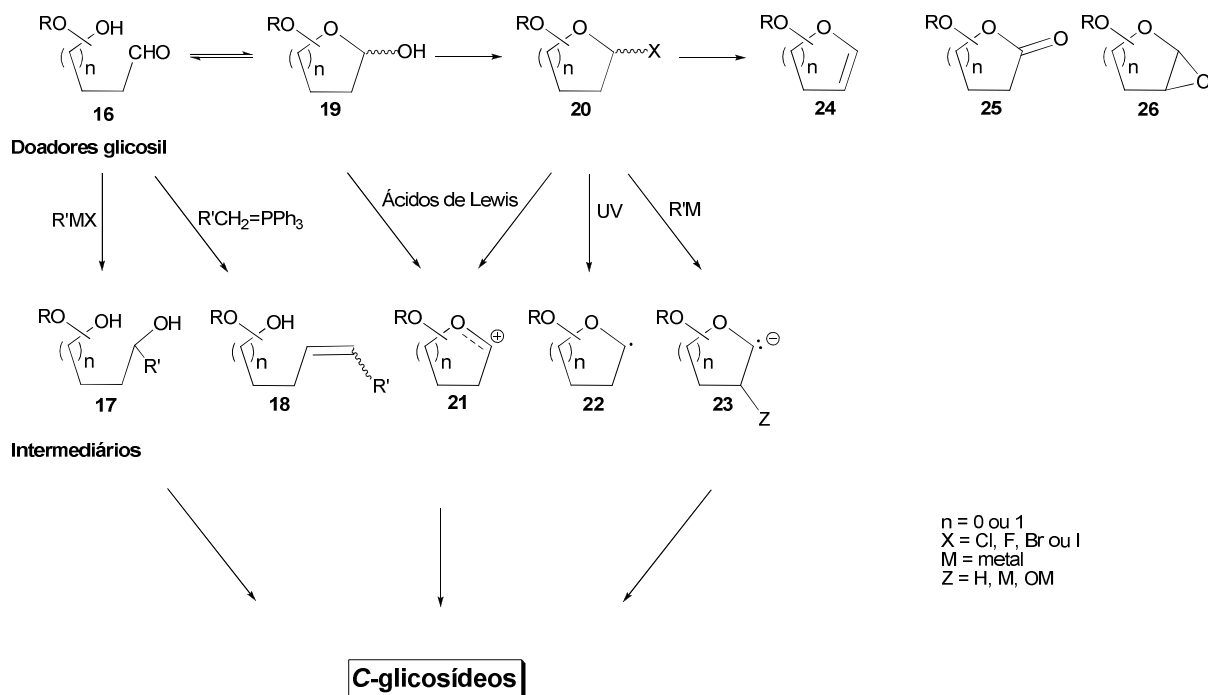


FIGURA 5 – ESTRUTURA QUÍMICA DA *PALYTOXIN* E *SPONGISTATIN 1*

C-Glicosilação pode ser realizada via formação de radical livre (PONTEN; MAGNUSSON, 1996) **22**. Bromo glicosídeos podem reagir com alil sulfetos ou sulfonas na presença de $\text{Bu}_3\text{SnSnBu}_3$ em condições fotolíticas. Outra estratégia utilizada é a inversão da polaridade do carbono anomérico. O tratamento de glicosil haletos com $n\text{-BuLi}$ gera um intermediário carbânion **23** que ao reagir com aldeídos leva a formação de C-glicosídeos (PARKER; COBUM, 1991).

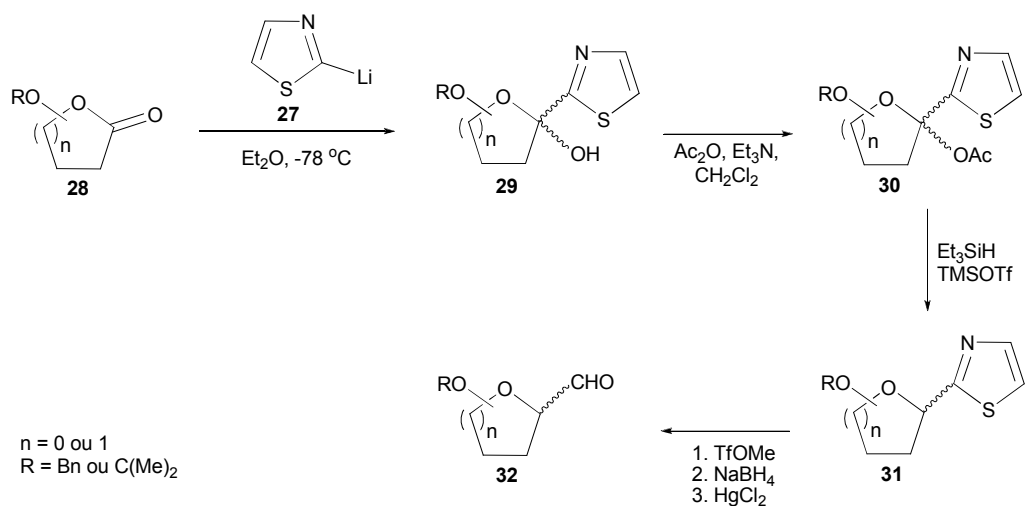


ESQUEMA 2 – DOADORES GLICOSIL E INTERMEDIÁRIOS UTILIZADOS NA SÍNTESE DE C-GLICOSÍDEOS

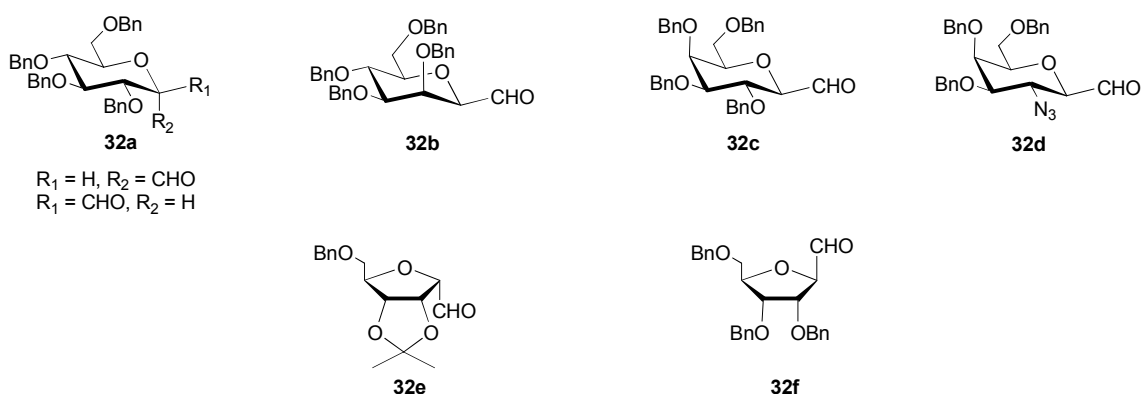
Nas reações de C-glicosilação um novo estereocentro é formado. Na maioria dos casos, apenas um dos diastereoisômeros (*alfa* ou *beta*) é desejado. Portanto, as reações de C-glicosilação devem ser planejadas e realizadas de forma a produzir apenas o isômero desejado. Uma forma de contornar os problemas relacionados a baixa estereoseletividade de algumas reações de C-glicosilação, é utilizar doadores glicosil que já possuam uma estereoquímica definida (*alfa* ou *beta*) no carbono anomérico.

Dondoni e Schermann (1994) sintetizaram C-formil glicosídeos *alfa* ou *beta* derivados de glucose, manose, galactose e ribose (Esquema 3). A adição de 2-lítio-tiazol **27** ao derivado lactona **28** dos açúcares de interesse fornece o cetol derivado **29**. A acetilação seguida da redução do cetol acetato derivado **30** com Et_3SiH e TMSOTf gera o C-glicosídeo tiazol **31**. Com exceção da glucose, os derivados açúcares piranosídicos após redução geraram exclusivamente o β -C-glicosídeo tiazol **31**. Para os derivados cetol acetatos furanosídicos não foi observado um

excesso diastereoisomérico significativo. A partir do C-glicosil tiazol de configuração anomérica definida, o protocolo *one pot* de N-metilação, redução e hidrólise com mercúrio forneceu os C-formil-glicosídeos **32a-f**. A preparação destes C-formil *building blocks* foi realizada diversas vezes e em escala preparativa (1 a 15 g). Estes compostos foram utilizados como doadores glicosil em diversas metodologias de C-glicosilação, com destaque nas reações de multicomponentes para a formação de C-nucleosídeos e C-glicosil aminoácidos (DONDONI, 2000; DONDONI; MASSI, 2006).



C-formil-glicosídeos *building blocks*



ESQUEMA 3 – SÍNTESE DE C-FORMIL-GLICOSÍDEOS *BUILDING BLOCKS*

1.4 REAÇÕES DE MULTICOMPONENTES

As reações em que três ou mais reagentes são adicionados ao mesmo tempo num único frasco (*one-pot*) para formar um novo composto que contém na sua composição a maioria dos átomos dos reagentes de partida são denominadas de reações de multicomponentes (RMCs) (Figura 6a) (DOMLING; UGI, 2000). Hoje em dia, reações dominó *one-pot* onde dois componentes dão origem a um intermediário que na sequência é capturado por um terceiro reagente também são aceitas como RMCs (Figura 6b) (MINGHINI, 2003).

Nas RMCs os reagentes participam de uma sequência de reações elementares irreversíveis e de equilíbrio que geram diferentes intermediários. Todas estas reações estão conectadas e são importantes para direccionar a formação do produto.

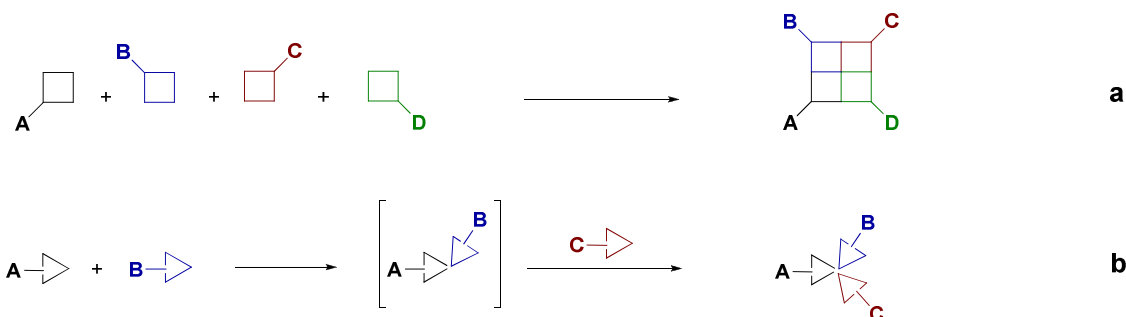


FIGURA 6 – REAÇÕES DE MULTICOMPONENTES

As RMCs apresentam uma série de vantagens em relação ao métodos clássicos de síntese orgânica que envolvem múltiplas etapas. Algumas das vantagens são (RAMON; YUS, 2005; BIENAYME *et al.*, 2000; DOMLING, 2006):

- **Convergência:** Uma reação é dita convergente quando tende a maximizar o rendimento através da diminuição dos números de etapas envolvidos na síntese.

Dessa forma, as RMCs por serem processos *one-pot* apresentam o máximo de convergência.

- Economia de átomos: O produto das RMCs é a soma de todos os reagentes de partida. Isto representa uma grande economia de reagentes.
- Seletividade: Embora a variação dos reagentes de partida permitam a obtenção de um grande número de produtos diferentes, a reação produzirá sempre compostos contendo um estrutura básica precisa.
- Econômicas: O processo *one-pot* evita a necessidade de purificação de intermediários. Isto representa uma grande economia de solventes, energia, mão de obra e outros insumos laboratoriais. A obtenção do produto alvo numa única etapa representa ainda uma grande economia de tempo no desenvolvimento do projeto sintético.
- Ecológicas: Recentemente a comunidade química tem concentrado esforços no desenvolvimento de metodologias sintéticas que sejam mais benéficas ao meio ambiente. Nesse sentido a economia de solventes, insumos e reagentes já discutidas tem um papel relevante. Além disso, a facilidade de adaptação das RMCs para utilização de metodologias com maior apego ecológico tais como, reações na ausência de solvente (*solvent-free reactions*) (SU *et al.*, 2005), e organocatalisadas (GONG; CHEN; XU, 2007) tem sido descritas.
- Alto potencial na síntese combinatória e descobrimento de novos fármacos: Nas ultimas décadas o maior entendimento de muitos processos biológicos trouxe uma maior demanda pela síntese de novos compostos com potencial atividade biológica. A síntese combinatorial (BALKENHOHL *et al.*, 1996) tem um importante papel para produção de coleções de novos compostos (*chemical libraries*). Várias companhias farmacêuticas investiram grandes volumes de recursos no desenvolvimento de métodos automatizados de síntese e de avaliação das atividades biológicas (*high-throughput screening*). Facilidades de automação de todo o processo reacional, desde a síntese até a purificação tornam as RMCs uma grande ferramenta dentro da síntese combinatória. A variação estrutural dos reagentes de partida permite a síntese de uma grande coleção de compostos. Por exemplo, a possibilidade de utilização de 10 reagentes diferentes numa reação de 4 componentes permitiria a

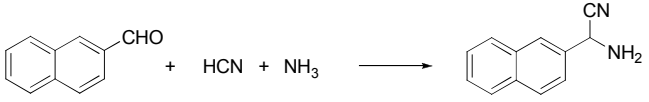
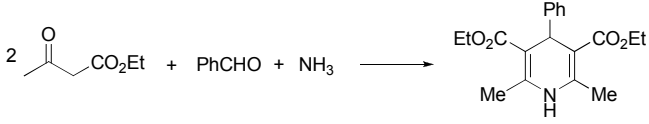
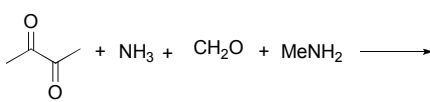
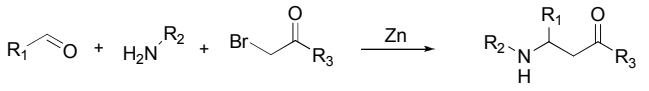
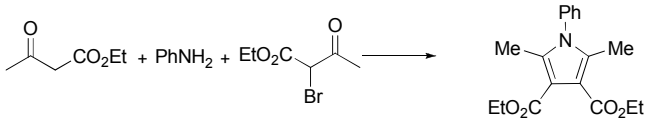
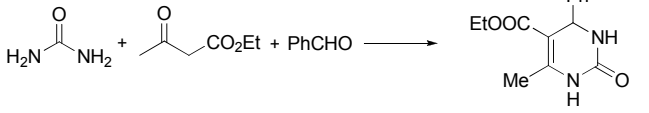
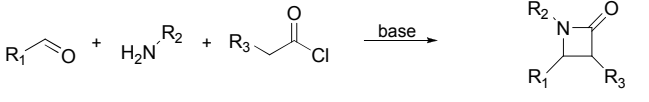
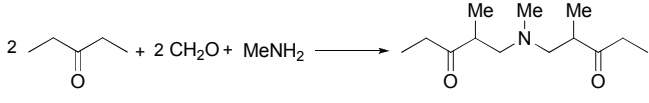
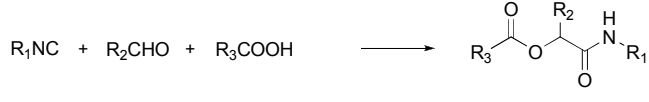
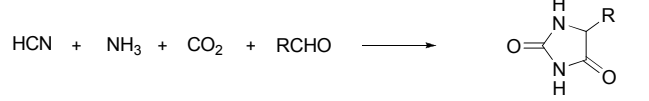
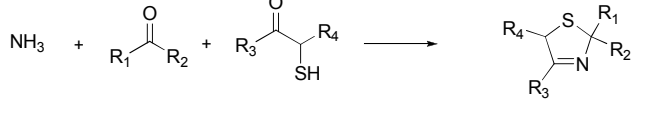
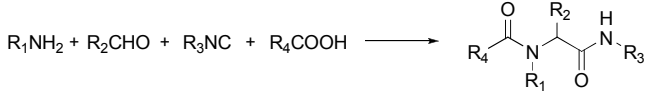
síntese de uma coleção de 10^4 compostos. As RMCs permitem ainda um alto poder exploratório devido a alta seletividade das reações. Compostos possuindo uma estrutura básica comum de reconhecida atividade biológica e com variadas substituições podem ser sintetizados. Diversas coleções explorando as RMCs foram sintetizadas.

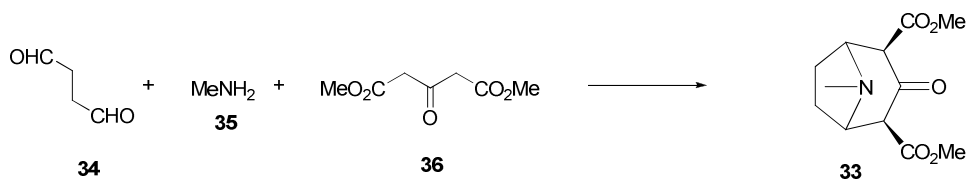
As primeiras RMCs foram descritas há mais de 150 anos e foram denominadas com os nomes de seus inventores. Na Tabela 1 são mostradas as principais RMCs e os seus respectivos produtos (DOMLING; UGI, 2000).

A reação de Strecker (1850) foi a primeira RMC descrita. Nesta reação o benzaldeído, amônia e HCN se combinam para formar aminobenzil cianeto. Esta reação é uma importante rota para a produção de α -aminoácidos. As RMCs são utilizadas para a produção de heterociclos com destacadas propriedades farmacológicas. A reação de Hantzsch (1882) da origem a dihidropiridinas, uma classe de moléculas com reconhecida propriedade antagonista dos canais de cálcio.

As dihidropirimidinas podem ser obtidas a partir da RMC de Biginelli (1893) e possuem uma reconhecida atividade antitumoral. A reação de Mannich, descoberta em 1912, mostrou-se eficiente na síntese de produtos naturais. Cinco anos mais tarde Robinson (1917) sintetizou o alcalóide tropinona **33** através desta RMC utilizando dialdeído succínico **34**, metilamina **35** e dimetil-1,3-acetonadicarboxilato **36** (Esquema 4). As reações de Mannich (1912) e Reformatsky (1887) são importantes rotas de síntese para obtenção de β -aminoácidos. A reação de Staudinger (1907) produz compostos com anéis β -lactâmicos, que são reconhecidos pela sua atividade antimicrobiana ao inibir a síntese da parede celular bacteriana. Esta reação tem sido amplamente explorada para produção de coleções de moléculas (*chemical libraries*). Passerini em 1921 foi o primeiro a utilizar isocianatos em RMCs. Esta reação é semelhante a de Ugi e são utilizadas na obtenção de análogos de peptídeos.

TABELA 1 - PRINCIPAIS REAÇÕES DE MULTICOMPONENTES

Nome	Ano de descobrimento	Reação
Strecker α -Aminonitrilas	1850	
Hantzsch Dihidropiridinas	1882	
Radziszewski Imidazóis	1882	
Reformatsky β -Amino-carbonil	1887	
Hantzsch Pirrole	1890	
Biginelli Dihidropirimidinas	1893	
Staudinger β -Lactâmicos	1907	
Mannich β -Amino-carbonil	1912	
Passerini α -Aciloxi-carboxamidas	1921	
Bucherer-Bergs Hidantoína	1941	
Asinger Tiazolinas	1958	
Ugi α -Aminoácidos	1959	



ESQUEMA 4 – SÍNTESE DA TROPINONA COM 3 COMPONENTES

As RMCs são também utilizadas para a produção de moléculas quirais. As RMCs assimétricas (RMCAs) são reações em que três ou mais reagentes - quirais ou aquirais - são adicionados juntos num único frasco para formar um composto com pelo menos um novo estereocentro e que contém a maioria dos átomos dos reagentes de partida (RAMON; YUS, 2005). Dependendo da forma de indução assimétrica, interna ou externa, as RMCAs são classificadas em diasterosseletivas ou enantiosseletivas (Figura 7). Nas RMCAs diasterosseletivas utiliza-se um ou mais reagentes quirais para gerar a indução assimétrica, enquanto que na RMCAs enantiosseletiva utiliza-se um catalisador quiral.

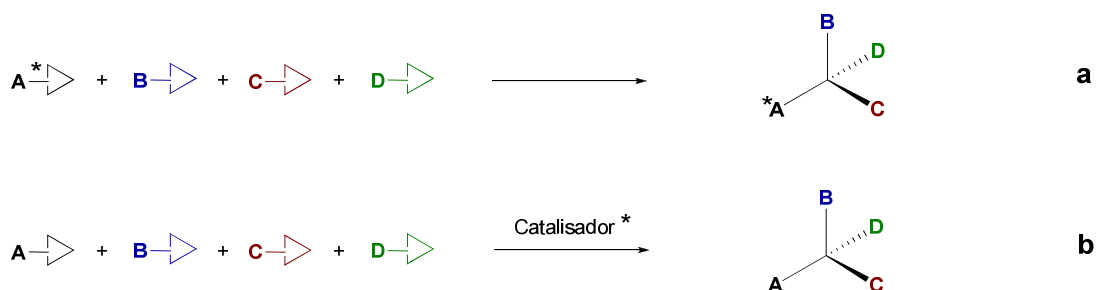
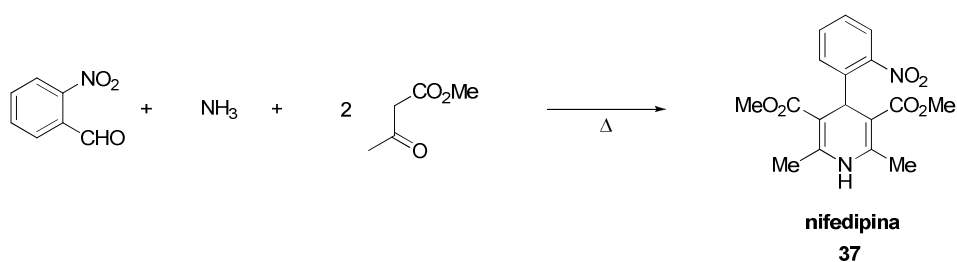


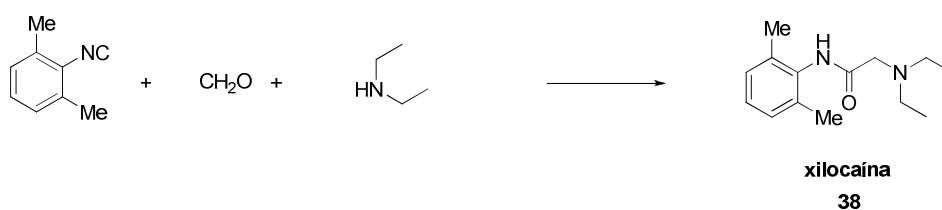
FIGURA 7 – RMCAs DIASTEROSSELETIVAS (a) E ENANTIOSSELETIVAS (b)

As reações de multicomponentes em todas as suas versões tiveram e ainda tem um importante papel no desenvolvimento de novos fármacos. A nifedipina **37** é uma dihidropiridina obtida através da reação de Hantzsch utilizada como antihipertensivo desde da década de 70 (Esquema 5) (BOSSERT; VATER, 1971).

Uma variação da reação de Ugi possibilitou a síntese do anestésico xilocaína **38** ainda em 1959 (Esquema 6) (DOMLING; UGI, 2000). A partir da variação dos reagentes de partida vários análogos da xilocaína com atividade anestésica foram produzidos pela companhia farmacêutica Bayer. Nos últimos anos as RMCs baseadas em reagentes contendo isocianatos tem sido utilizadas na síntese de inibidores de quinases, proteases e metalo-proteases e de interações proteína-proteína (DOMLING, 2006).



ESQUEMA 5 – SÍNTESE DA NIFEDIPINA COM 3 COMPONENTES



ESQUEMA 6 – SÍNTESE DA XILOCAÍNA COM 3 COMPONENTES

1.5 ORGANOCATÁLISE

Na natureza as enzimas são conhecidas pela sua capacidade de catalisar reações de forma eficiente e enantiosseletiva. Na síntese orgânica a enantiosseletividade é frequentemente alcançada através da utilização de catalisadores metálicos. Um dado curioso, entretanto, é que metade das enzimas conhecidas não contém metais no seu sítio ativo (SEAYAD; LIST, 2005).

Nos últimos anos vem crescendo enormemente a utilização de moléculas orgânicas como catalisadores em síntese assimétrica. Organocatalisadores são moléculas orgânicas de baixo massa molecular que possuem a atividade catalítica dependente exclusivamente das suas características químicas ácido-base e de interação intermolecular. São de fácil obtenção a um baixo custo, estáveis, livres de metais e não tóxicos (SEAYAD, LIST, 2005; DONDONI; MASSI, 2008).

A palavra organocatálise, na sua moderna definição, foi cunhada por MacMillan em 2000 (AHRENDT; BORTHS; MACMILLAN, 2000). Historicamente, pode-se dizer que Bredig e colaboradores em 1912 foram os primeiros a utilizar um alcalóide como organocatalisador na síntese de cianoidrinas (MASSI, 2007). Na década de 70 dois grupos ligados à indústria publicaram a primeira reação de aldolização catalisada pelo aminoácido prolina (HAJOS; PARRISH, 1974; EDER; SAUER; WIECHERT, 1971). Entretanto, todo o potencial de utilização de organocatalisadores em síntese assimétrica foi pouco explorado até poucos anos atrás.

Embora não se discuta a importância da biocatálise e da catálise metálica dentro da síntese orgânica, a organocatálise representa um significativo avanço e tem como principais vantagens (SEAYAD, LIST, 2005; DONDONI; MASSI, 2008; MASSI, 2007):

- Baixo custo: Os organocatalisadores são mais baratos que muitas enzimas e metais.

- Estabilidade: Uma maior estabilidade aliada à possibilidade de utilização em várias condições (aquosas, aeróbicas, altas temperaturas, etc) em que metais e enzimas não podem ser utilizados.
- Ecológicas: Por serem moléculas orgânicas os resíduos produzidos são menos nocivos.
- Seletividade: Os organocatalisadores reconhecem funções orgânicas específicas. Isto evita reações colaterais e até a necessidade de proteção de certos grupos funcionais.
- Aplicabilidade industrial: Todas as vantagens citadas acima tornam o uso da organocatálise altamente promissor pela indústria química e farmacêutica.

De acordo com o caráter ácido-básico, Seayad e List (2005) dividiram os organocatalisadores em 4 grupos: Ácidos e Bases de Lewis e Ácidos e Bases de Brønsted. Na Figura 8 são mostrados alguns exemplos de organocatalisadores.

Dentro da organocatálise merecem destaque a utilização de bases de Lewis azotadas e ácidos de Brønsted na manipulação de substratos contendo o grupo carbonila. Estas reações foram mais estudadas e detalhes sobre seus mecanismos tem mostrado a importância de interações eletrostáticas, ponte de hidrogênio e estéricas, entre catalisador e substrato no estado de transição, que explicam a alta estereoseletividade observada (MASSI, 2007). Estes estudos mostram que a catálise ocorre de forma mais simplificada, mas semelhante a catálise enzimática.

A utilização de aminas primárias e secundárias (bases de Lewis) como organocatalisadores permite converter substratos contendo o grupo carbonila em intermediários nucleófilos ou eletrófilos ativados. Os principais intermediários formados são enaminas (LIST, 2004; MUKHERJEE *et al.*, 2007) e íons imínio (ERKKILA; MAJANDER; PIHKO, 2007).

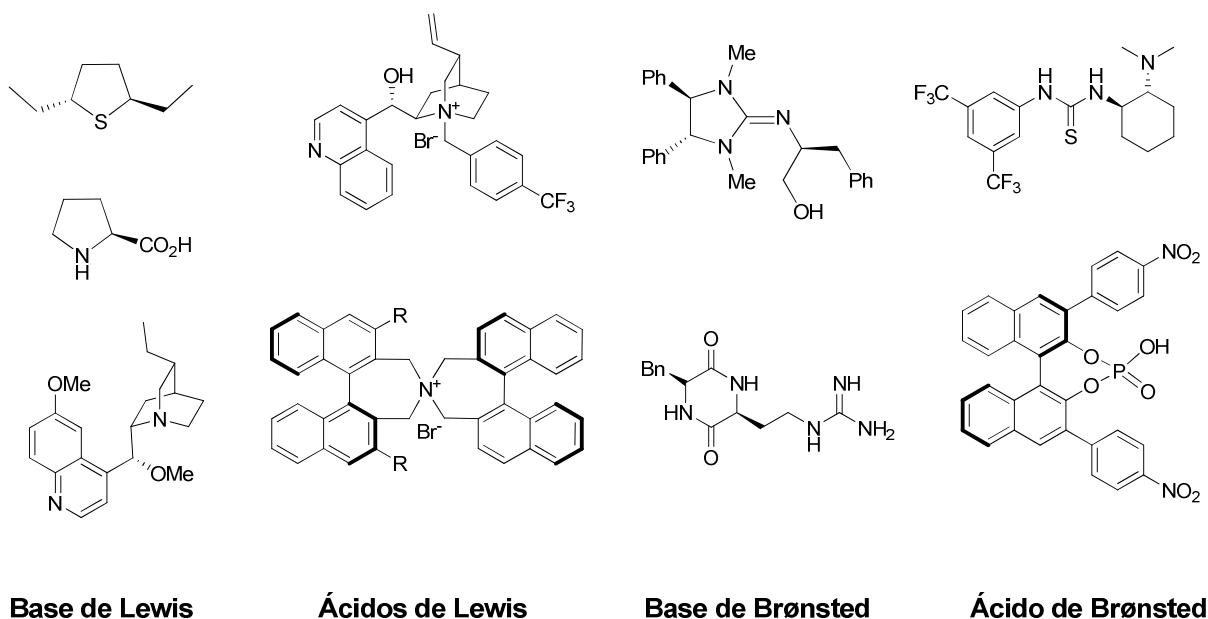


FIGURA 8 – EXEMPLOS DE ORGANOCATALISADORES

No ciclo catalítico via enamina (Esquema 7) o processo chave é a formação do íon imínio **39** que diminui a energia do orbital molecular desocupado (LUMO - *lowest unoccupied molecular orbital*) do sistema. Ocorrendo a desprotonação do carbono *alfa*, um intermediário enamina **40** é formado resultando num aumento de energia do HOMO (*highest occupied molecular orbital*). Neste estágio, o intermediário enamina **40** pode reagir via adição ou substituição nucleofílica. A hidrólise do íon imínio α -substituído **41** com uma molécula de água fornece o produto **42** junto com o catalisador L-prolina **43**.

O ciclo catalítico via enamina mimetiza a condensação entre o substrato carbonílico e um resíduo de lisina presente no sítio ativo de aldolases do tipo I (WAGNER; LERNER; BARBAS III, 1995). Isto claramente representa um belo exemplo de similaridade mecanística entre organo e biocatálise.

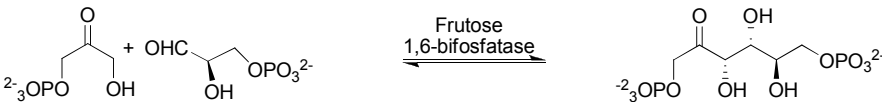
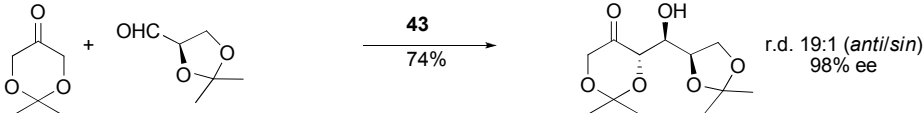
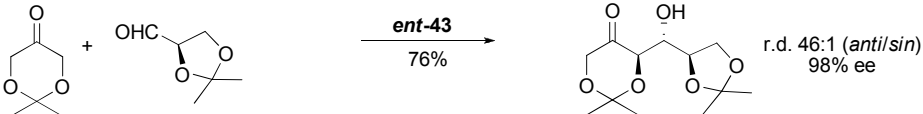
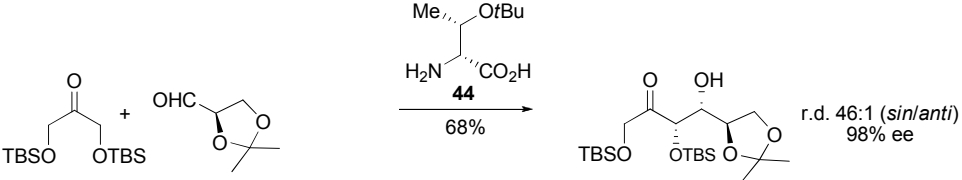
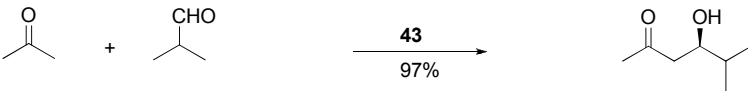
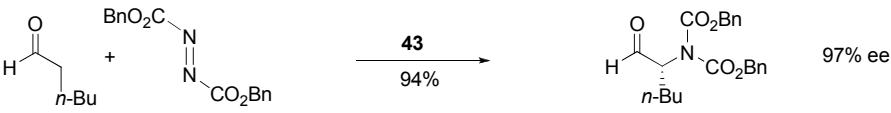
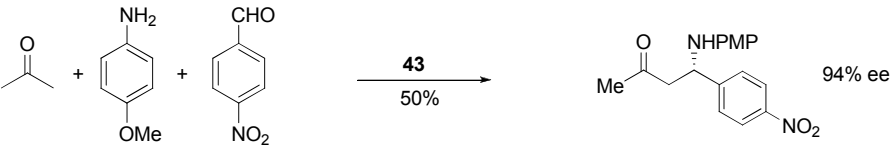
estereocentros em configuração relativa *anti*, o derivado da treonina **44** produziu estereocentros em configuração relativa *sin*.

O primeiro exemplo de catálise via intermediário enamina rendendo um produto assimétrico foi descrito por List, Lerner e Barbas III (2000). A aldolização de cetonas e aldeídos, catalisada pela L-prolina, produziu compostos ceto- β -hidroxilados com alto rendimento e enantioseletividade (Tabela 2, entrada 5). Este ciclo catalítico tem sido amplamente explorado utilizando acetonas e aldeídos como substratos (LIST, 2002; LIST, 2000). Diferentes eletrófilos foram utilizados, como por exemplo compostos carbonil, iminas, azodicarboxilatos, nitrobenzenos e aceptores do tipo Michael (Tabela 2, entradas 6 e 7).

No processo catalítico via intermediário enamina a prolina não age como uma simples base de Lewis. Tanto a função amina quanto carboxílica (ácido de Brønsted) são importantes para ativação do substrato. Dessa forma, a prolina é um exemplo de catalisador bifuncional, ou seja, capaz de ativar tanto nucleófilo quanto eletrófilo (LIST, 2004). O aumento no conhecimento do mecanismo catalítico levou ao desenvolvimento de novos catalisadores, principalmente análogos da prolina com maior reatividade e seletividade (SAITO; YAMAMOTO, 2004). Várias modificações são descritas, como por exemplo, a substituição da função carboxila por outras funções ácidas e a inserção de grupos volumosos ou capazes de realizar interações ponte de hidrogênio.

Na Figura 9 são mostrados alguns exemplos de organocatalisadores obtidos a partir da derivatização do aminoácido L-prolina. Alguns destes compostos podem ser obtidos comercialmente. Os derivados sal de amônio **45** e tetrazol **46** são bons exemplos de modificações que alteram o acidez do catalisador. Enquanto que L-prolina **43** apresenta um pKa de aproximadamente 12 (em DMSO), os compostos **45** e **46** apresentam um pKa de 10 e 8 respectivamente (SAITO; YAMAMOTO, 2004).

TABELA 2 – REAÇÕES CATALISADAS VIA INTERMEDIÁRIO ENAMINA

Entrada	Reação
1	 <p>Frutose 1,6-bifosfatase</p>
2	 <p>43 74%</p> <p>r.d. 19:1 (<i>anti/sin</i>) 98% ee</p>
3	 <p><i>ent</i>-43 76%</p> <p>r.d. 46:1 (<i>anti/sin</i>) 98% ee</p>
4	 <p>Me, <i>OT</i>Bu H₂N, CO₂H 44 68%</p> <p>r.d. 46:1 (<i>sin/anti</i>) 98% ee</p>
5	 <p>43 97%</p> <p>96% ee</p>
6	 <p>43 94%</p> <p>97% ee</p>
7	 <p>43 50%</p> <p>94% ee</p>

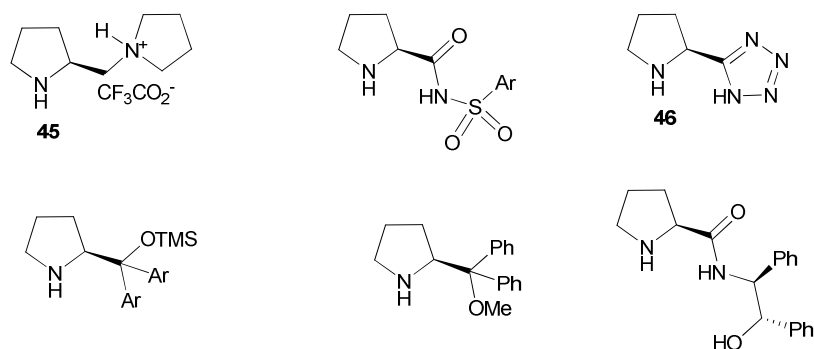
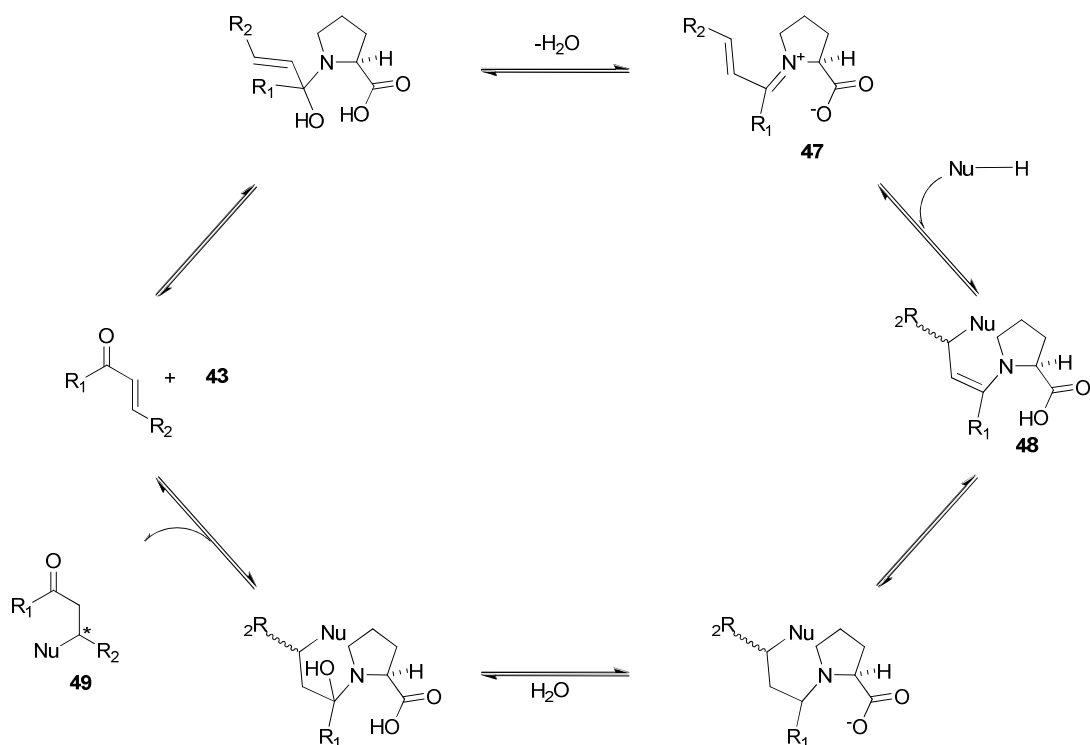


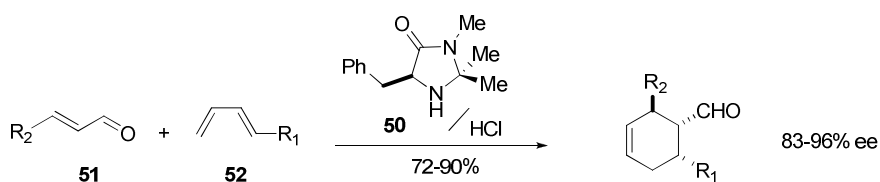
FIGURA 9 – ORGANOCATALISADORES DERIVADOS DA L-PROLINA

A catálise via intermediário imínio segue o mesmo princípio da catálise via enamina (Esquema 8) (MASSI, 2007). O intermediário imínio gerado **47** diminui a energia LUMO do sistema e como resultado pode sofrer um ataque de um nucleófilo. A enamina **48** formada recebe um próton do próprio catalisador. A hidrólise restaura o catalisador liberando o produto final **49**.



ESQUEMA 8 – CICLO CATALÍTICO VIA INTERMEDIÁRIO IMÍNIO

Esta estratégia tem sido aplicada principalmente a aldeídos α,β -insaturados e enonas. Um bom exemplo de aplicação da catálise via intermediário imínio foi publicado por Ahrendt, Borths e MacMillan (2000). Utilizando uma amina secundária **50** como catalisador, foi promovido uma reação de Diels-Alder enantioseletiva com aldeídos **51** insaturados e alquenos conjugados **52** (Esquema 9).



ESQUEMA 9 – EXEMPLO DE CATÁLISE VIA INTERMEDIÁRIO IMÍNIO

1.6 DIHIDROPIRIDINAS: PROPRIEDADES FARMACOLÓGICAS E SÍNTESE

As dihidropiridinas (DHPs) começaram a chamar atenção de químicos e bioquímicos ainda na década de 30 a partir da descoberta da estrutura do cofator enzimático NADH. A presença do anel DHP é responsável por fornecer poder redutor em vários processos enzimáticos (Figura 10) (NELSON; COX, 2000).

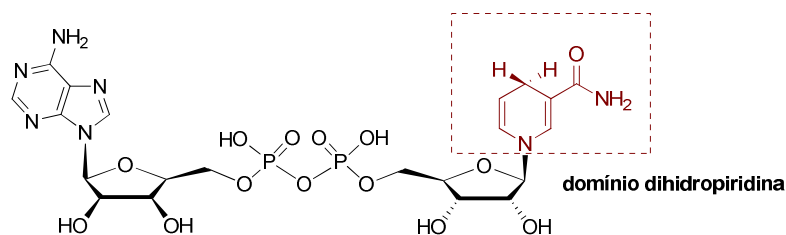


FIGURA 10 – ESTRUTURA DO NADH

Na década de 40, Phillips e Randall (1943) relataram a síntese de diversas DHP substituídas contendo atividade analgésica, espasmolítica e agonista da morfina. Na década de 70 a empresa alemã Bayer iniciou a comercialização da Nifedipina **37** (Figura 11) (MEYER *et al.*, 1976) um potente vasodilatador utilizado até os dias de hoje no tratamento de hipertensão. A Nifedipina e outras DHPs atuam como potentes antagonistas de canais de cálcio. Vários medicamentos pertencentes à classe das DHPs são encontrados no mercado, como por exemplo a Felodipina **53**, Nimodipina **54** e Amlodipino **55**.

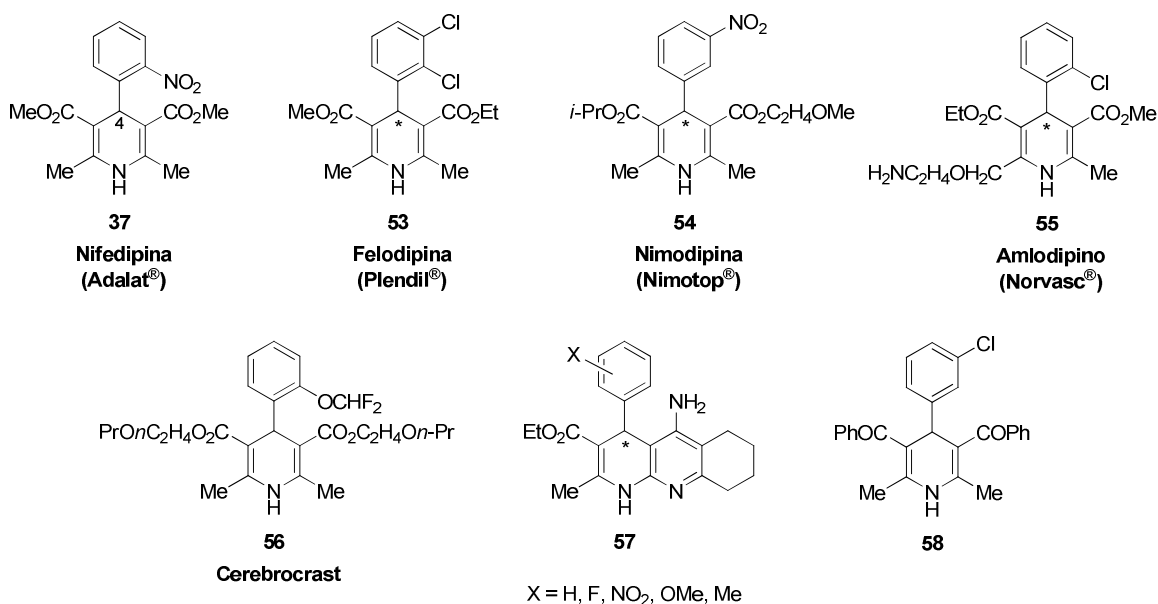
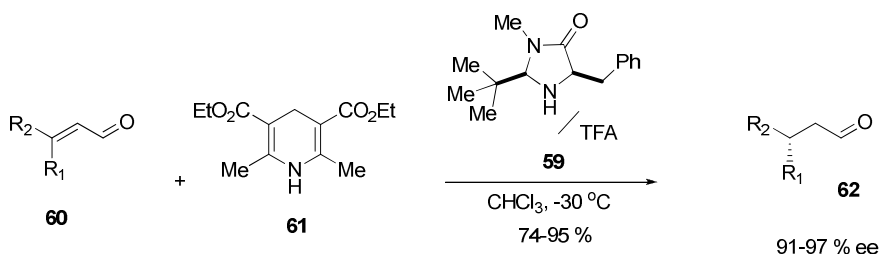


FIGURA 11 – EXEMPLOS DE DIHIDROPIRIDINAS (DHPs)

Estudos que correlacionam estrutura e atividade indicam que a estereoquímica do C-4 do anel DHP, bem como o tipo de substituinte presente são determinantes para a atividade biológica (COBUM *et al.*, 1988; VO *et al.*, 1995). As DHPs enantiômeras podem apresentar propriedades completamente diferentes. A natureza dos grupos ésteres em C-3 e C-5 também tem um grande peso nas propriedades farmacológicas das DHPs.

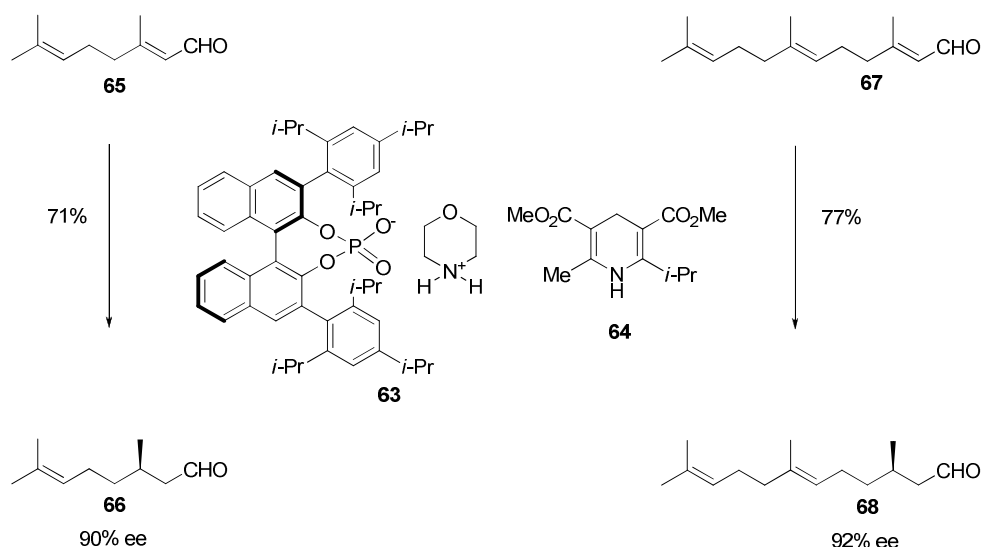
Além da atividade antagonista dos canais de cálcio, uma série de novas propriedades tem sido relatadas para as dihidropiridinas. Foi descrita uma atividade neuroprotetiva do composto Cerebrocrast (KLUSA, 1995) **56** e derivados DHPs (MARCO-CONTELLES *et al.*, 2006) **57**. Este resultado demonstrou uma potencial aplicação das DHPs no tratamento de mal de Alzheimer. Recentemente Kwase *et al.* (2002) demonstraram que a DHP **58** pode inibir a ação da glicoproteína-P. Esta proteína é super expressada em células tumorais e é responsável pelo efluxo de drogas utilizadas no tratamento do câncer. Dessa forma, as DHPs podem ter uma potencial aplicação como auxiliares na terapia tumoral. São descritas ainda propriedades antagonistas do fator de ativação plaquetária (COOPER *et al.*, 1992) e receptor adenosina A₃ (JIANG *et al.*, 1999), radioproteção (DONKOR *et al.*, 1998) e inibidora de protease do vírus da SIDA (HILGEROTH; LILIE, 2003).

Além da utilização no campo farmacêutico, as DHPs tem sido recentemente utilizadas como agentes redutores em síntese orgânica (OUELLET; WALJI; MACMILLAN, 2007). Ouellet, Tuttle e Macmillan (2005) utilizaram o organocatalisador **59** para gerar o intermediário imínio a partir de aldeídos α,β -insaturados e β,β' -disubstituídos **60** (Esquema 10). A DHP **61** participou na reação como doador de hidreto ao intermediário imínio assimétrico formado. Foram obtidos aldeídos assimétricos **62** com bom excesso enantiomérico. Esta hidrogenação enantiosseletiva foi baseada na reação que as oxiredutases catalisam na presença de NADH em sistemas biológicos. De forma um pouco mais simplista da que ocorre na natureza, os autores idealizaram que o organocatalisador poderia mimetizar a enzima e gerar um intermediário assimétrico enquanto a DHP mimetizaria o NADH atuando como agente redutor.



ESQUEMA 10 – REDUÇÃO ORGANOCATALÍTICA E ENANTIOSSELETIVA COM DHP

Outros interessantes exemplos de seletividade alcançada na reação de hidrogenação utilizando DHPs como agentes redutores foram descritos por Mayer e List (2006). Utilizando o organocatalisador **63** e DHP **64** foi possível a redução do (*E*)-citral **65** a (*R*)-citronellal **66** - utilizado como ingrediente de perfumes e intermediário na síntese do mentol – e do farnesal **67** a (*R*)-dihidrofarnesal **68**, um feromônio (Esquema 11).



ESQUEMA 11 – REDUÇÃO ENANTIOSELETIVA DO (*E*)-CITRAL **65** E FARNESAL **67**

O modo mais fácil de sintetizar DHPs substituídas é através da reação de multicomponentes de Hantzsch (1882). Arthur Rudolf Hantzsch* no ano de 1882 descobriu a síntese de DHPs ao misturar dois equivalentes do β -cetoéster **69**, um equivalente de aldeído **70** e um equivalente de amônia **71**. Ao refluxar a mistura em etanol por diversas horas Hantzsch isolou 1,4-DHPs **72** que foram depois oxidadas a

* Arthur Rudolf Hantzsch (1857-1935) nasceu em Dresda, Alemanha. Graduiu-se no politécnico de Dresda e obteve seu Ph.D. pela universidade de Wurzburg (1880). Tornou-se professor de química orgânica no politécnico de Zurich (1885-1893), Universidade de Wurzburg (1893-1903) e Universidade de Lipsia (1903-1927). Estudou estereoquímica, síntese de dihidropiridinas e piridinas (1882), cumarínicos (1886), tiazóis (1889) e pirróis (1890). Hantzsch é responsável pela nomenclatura dos heterociclos. A partir de 1907 começou a estudar crioscopia e espectroscopia de UV.

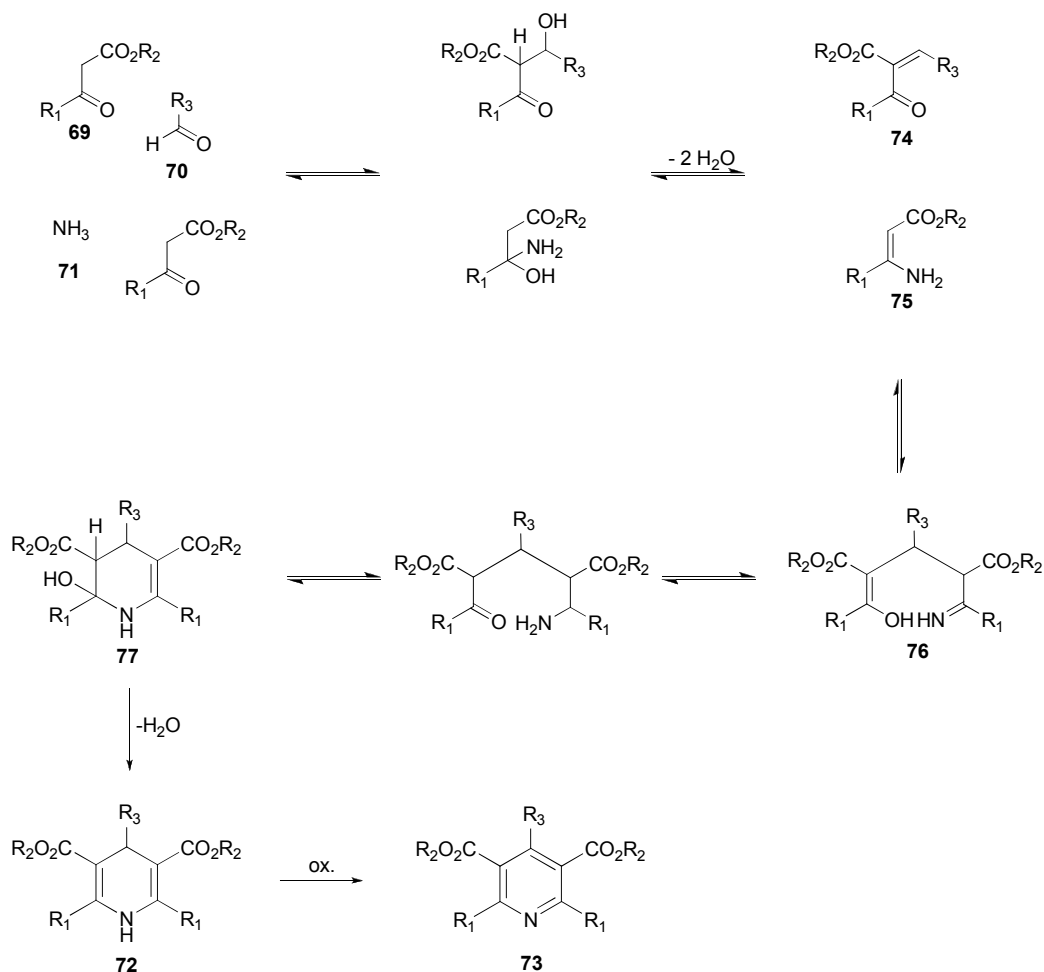
Fonte: European Association for Chemical and Molecular Science. Disponível em <<http://www.euchems.org/Distinguished/20thCentury/hantzsch.asp>> acesso em: 17/11/2008.

seus respectivos derivados piridinas **73** (Esquema 12). O mecanismo de reação hoje aceito prevê uma condensação entre **69** e **70** e a formação da enona de Knoevenagel **74** através da eliminação de uma molécula de água. Paralelamente, o β -cetoéster **69** reage com a amônia **71** formando uma enamina **75** e eliminando uma segunda molécula de água. A enamina formada **75** ataca com uma adição do tipo Michael a enona de Knoevenagel **74**. O intermediário **76**, após rearranjo forma a hidroxitetrahidropiridina **77**. Após a eliminação de uma molécula de água o intermediário **77** da origem a DHP **72** (MINGHINI, 2003).

A reação original de Hantzsch possui algumas desvantagens tais como: baixo rendimento; vários subprodutos na mistura reacional; e ainda a amônia pode provocar danos ao produto ou reagentes com estereocentros epimerizáveis. Por esta razão, algumas modificações foram introduzidas como o uso de enaminas **75** e/ou enonas de Knoevenagel **74** pré-formadas (MINGHINI, 2003).

Vários trabalhos são encontradas na literatura trazendo inovações que visam melhorar o procedimento original descrito por Hantzsch. Diversos catalisadores foram testados, como por exemplo: triflatos metálicos (WANG, *et al.*, 2005), iodo molecular (KO *et al.*, 2005), suportes de sílica ácidos (MAHESWARA *et al.*, 2006), entre outros.

Bridgwood, Veitch e Ley (2008) desenvolveram uma metodologia que utiliza Mg_3N_2 para gerar amônia na presença de solventes próticos. Esta modificação produziu diversas DHPs com diferentes substituintes em bom rendimento. Lee (2005) adicionou β -cetoésteres e amônia a meios de cultura contendo a levedura *Saccharomyces cerevisiae* e isolou DHPs com até 70% de rendimento. Este foi o primeiro exemplo de produção de DHPs utilizando microorganismos.



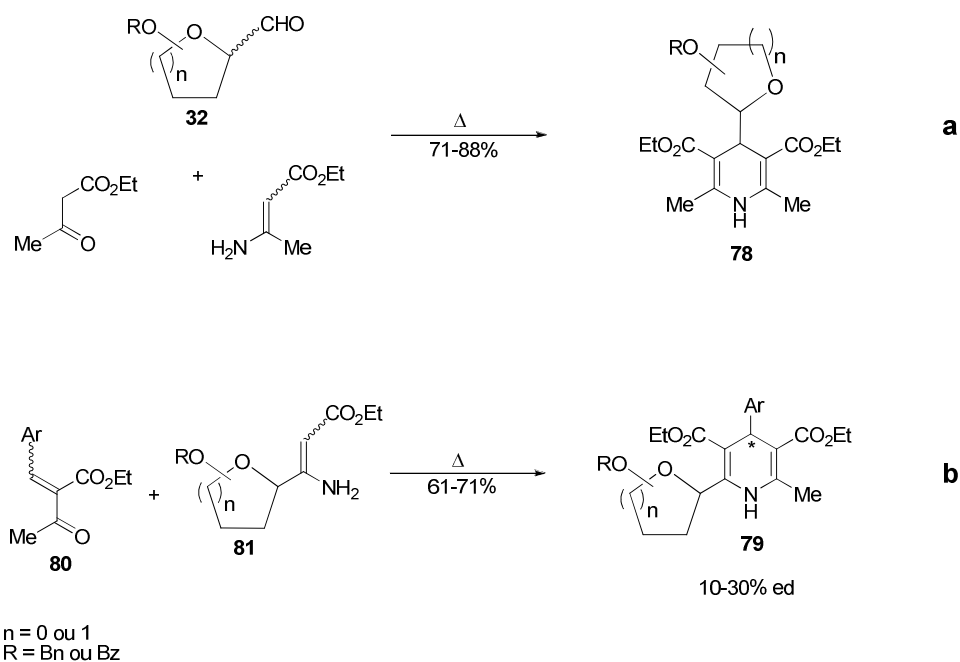
ESQUEMA 12 – REAÇÃO DE HANTZSCH COM 3 COMPONENTES

São descritas também metodologias utilizando técnicas menos nocivas ao meio ambiente como reações na ausência de solventes (KUMAR *et al.*, 2008) e utilizando organocatalisadores (KUMAR; MAURYA, 2007). A utilização de microondas visando diminuir o tempo de reação foi empregado com sucesso por Ohberg e Westman (2001).

A maioria dos exemplos de síntese de DHPs através da reação de Hantzsch utiliza reagentes aquirais como substratos, principalmente aldeídos aromáticos, β -cetoésteres e enaminas comerciais. Recentemente, Dondoni, Massi e Minghini (2002) utilizaram formil-C-glicosídeos **32** na síntese de DHPs glicosiladas simétricas **78** (Esquema 13a). Análogos glicosilados da ribose, galactose e manose foram

sintetizados. A reação de Hantzsch em condições térmicas forneceu DHPs com bom rendimento (71-88%). Estes compostos são C-nucleosídeos artificiais com potencial atividade biológica. A síntese de DHPs assimétricas **79**, glicosiladas em C-2 foi alcançada reagindo a enona de Knoevenagel **80** pré-formada com enaminas glicosiladas **81** com (Esquema 13b) (DONDONI *et al.*, 2002). Foram obtidos bons rendimentos (61-71%) com excesso diastereoisomérico que variaram de 10 a 30%.

A reação de Hantzsch foi utilizada na síntese de aminoácidos não naturais (DONDONI *et al.*, 2004). O interesse nestes compostos vem crescendo devido ao potencial uso na síntese de análogos peptídicos com potencial atividade biológica. A reação foi realizada utilizando aldeído derivado da glicina. O uso de polímeros como sequestrantes permitiu o isolamento de derivados DHPs em 75% de rendimento. Estes *building blocks* foram utilizados na síntese de peptídeos artificiais.



ESQUEMA 13 – SÍNTESE DE DHPS GLICOSILADAS SIMÉTRICAS (a) E ASSIMÉTRICAS (b)

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVOS GERAIS

O objetivo geral deste trabalho foi a hidrólise ácida da Agarose e *Kappa*-carragenana para obtenção de oligossacarídeos e derivados para posterior utilização destes produtos na síntese de *N*-alquil e C-glicosídeos com potencial atividade biológica.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Hidrólise acida parcial da Agarose e *Kappa*-carragenana para produção de oligossacarídeos contendo 3,6-anidro-galactose no terminal redutor;
- Purificação e caracterização espectroscópica dos oligossacarídeos redutores;
- Avaliação dos produtos de hidrólise da Agarose através de CLAE;
- Síntese de *N*-alquil glicosídeos utilizando lactose;
- Síntese de *N*-alquil glicosídeos utilizando oligossacarídeos derivados da *Kappa*-carragenana;
- Hidrólise da Agarose e *Kappa*-carragenana para obtenção de derivados mono- e dissacarídeos: C-glicosídeos da D- e L-treofuranose;
- Utilização dos derivados C-glicosídeos da D- e L-treofuranose na síntese de dihidropiridinas através da reação de multicomponentes de Hantzsch.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 SELEÇÃO DOS POLISSACARÍDEOS

3.1.1 Obtenção das fontes de Agarose 3

A amostra AG1 é um agar-agar comercial obtido da empresa Vetec química (Rio de Janeiro, RJ, Brasil). A amostra AG2 é uma agarose comercial obtida da empresa Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EUA). A amostra AG3 é uma agarose de baixo ponto de fusão obtida da empresa Invitrogen (Carlsbad, CA, EUA).

3.1.2 Obtenção da *Kappa*-carragenana 4 (KWS)

A alga vermelha *Kappaphycus alvarezii* foi cultivada no litoral norte (Ubatuba) do estado de São Paulo e coletada em março de 1999 (PAULA; PEREIRA; OHNO, 1999). A alga foi lavada com água corrente e secada a 60 °C até peso constante. A alga seca foi submetida a tratamento alcalino com KOH 6% por 48 h a temperatura ambiente (OHNO; NANG; HIRASE, 1996). Após este tratamento, a alga foi lavada com água corrente, secada a 60 °C até peso constante e moída. A alga seca e moída (80 g) foi extraída com água destilada (4,0 L) a 70 °C por 5 h. Após centrifugação (8000 rpm por 15 min) os sobrenadantes foram agrupados, concentrados e dialisados. A diálise foi realizada primeiro contra uma solução de NaCl 0,2 M e depois contra água destilada até completa remoção do excesso de sal. A solução polissacarídica dialisada foi concentrada à pressão reduzida. O extrato contendo os polissacarídeos KWS (43,3 g) foi obtido após liofilização com 54% de rendimento em relação a alga seca.

3.2 MÉTODOS ANALÍTICOS GERAIS

3.2.1 Cromatografia em sílica

As cromatografias em camada delgada (CCD) foram realizadas em cromatoplasmas de alumínio revestidas com sílica gel 60 ou sílica gel 60 F₂₅₄. As placas foram eluídas com diferentes misturas de solventes. A detecção dos compostos foi realizada borrifando uma solução de ácido sulfúrico (H₂SO₄ conc./EtOH 1:9) ou 0,5% orcinol (H₂SO₄ conc./EtOH 1:20). As cromatografias de sílica em coluna foram realizadas utilizando sílica gel 60 (230-400 mesh). A quantidade de sílica e o tamanho da coluna foram selecionados de acordo com a relação descrita por Still, Kahn e Mitra (1978).

3.2.2 Determinação da rotação ótica.

A determinação da rotação ótica específica ($[\alpha]_D$) foi realizada em polarímetro Perkin Elmer a 20 ± 2 °C.

3.2.3 Determinação do teor de sulfato

O teor de sulfato foi determinado pelo método de Dodgson (1961). As amostras (2 - 10 mg) foram hidrolisadas com HCl 1 M a 105 °C por 5 h. Alíquotas do hidrolisado foram adicionadas ao reativo gelatina de bário (1 mL). As análises foram realizadas em espectrofotômetro no comprimento de onda de 360 nm. O teor de sulfato foi determinado confrontando as absorbâncias das amostras contra uma curva padrão de Na₂SO₄.

3.2.4 Determinação da composição monossacarídica dos polissacarídeos

A composição monossacarídica dos polissacarídeos foi determinada de acordo com o método de Stevenson e Furneaux (1991). Os polissacarídeos (1,0 mg) foram dissolvidos separadamente em TFA 3 M (0,8 mL) e uma solução de borano 4-metil-morfolina (BMM) 0,8 mM (0,2 mL). A mistura foi aquecida a 80 °C por 15 min, resfriada a temperatura ambiente, e diluída com a solução de BMM 0,8 mM (0,2 mL). Esta nova mistura foi aquecida a 120 °C por 2 h, resfriada a temperatura ambiente, diluída novamente com a solução de BMM 0,8 mM (0,4 mL) e evaporada. O resíduo obtido foi dissolvido em Ac₂O (0,4 mL) e TFA conc. (0,2 mL), e a mistura resultante foi aquecida a 50 °C por 30 min. A solução obtida foi evaporada com o auxílio de tolueno e o resíduo obtido foi dissolvido em CHCl₃ (1,0 mL). Esta fase orgânica foi lavada com solução saturada de NaHCO₃ (2 × 2,0 mL) e água destilada (2 × 2,0 mL). A fase orgânica foi evaporada em fluxo de N₂ e os alditóis acetatos obtidos foram analisados por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa (CG-EM). As análises de CG-EM foram realizadas no cromatógrafo Varian 3800 equipado com coluna capilar de sílica fundida revestida com DB-225MS (30 m × 0,25 mm d.i.). O gás He foi utilizado como gás de arraste a um fluxo de 1 mL.min⁻¹.

3.2.5 Análise de espectrometria de massa

As análises de MALDI-TOF foram realizadas utilizando aparelho Bruker e ácido α -ciano-4-hidroxicinâmico como matriz, conforme descrito por Dondoni *et al.* (2002). As análises de ESIMS foram realizadas utilizando aparelho Micromass Quattro em modo positivo ou negativo utilizando MeCN-H₂O (7:3) como solvente.

3.2.6 Análise por ressonância magnética nuclear (RMN)

As análises de RMN foram realizadas em equipamentos da marca Bruker e Varian operando a frequências de 400 e 300 MHz para hidrogênio respectivamente. Os experimentos foram realizados utilizando tubo de 5 mm de diâmetro externo em diversos solventes deuterados. Experimentos bidimensionais ^1H - ^1H COSY, ^1H - ^1H TOCSY e ^1H - ^{13}C HMQC foram utilizados para o assinalamento dos compostos isolados.

3.3 OBTENÇÃO DOS OLIGOSSACARÍDEOS

3.3.1 Obtenção da agarobiose **82** e agarotetraose **83**

A amostra AG1 fonte de Agarose **3** (150 mg) foi dissolvida em H_2O (13,5 mL) quente ($\sim 90^\circ\text{C}$). Em seguida TFA 1 M (1,5 mL) foi adicionado em uma única alíquota. A mistura resultante foi aquecida a 65°C por 2 h, resfriada a temperatura ambiente, diluída com H_2O (15 mL) e então concentrada. O resíduo obtido foi novamente evaporado com tolueno para remoção do TFA. O xarope resultante foi dissolvido em H_2O (2,0 mL) e cromatografado em coluna de permeação em gel contendo Bio-Gel P2 (70 cm \times 1,5 cm d.i.) Os oligossacarídeos foram detectados pelo método do fenol-ácido sulfúrico (DUBOIS *et al.*, 1956) e CCD. As CCD foram realizadas utilizando uma mistura de BuOH-AcOH- H_2O (2:2:1) como fase móvel. As frações AA e AB foram agrupadas, concentradas a pressão reduzida e liofilizadas para fornecer agarobiose **82** (15 mg, 12% a partir da Agarose **3**)* e agarotetraose **83** (13 mg, 6% a partir da Agarose **3**)* respectivamente.

* O rendimento foi calculado em função do teor de 3,6-anidro-L-galactose presente na amostra AG1. De acordo com a análise de CG-EM, um grama de AG1 contém 2,38 mmol de 3,6-anidro-L-galactose.

3.3.2 Obtenção da κ -carrabiose **84** e κ -carratetraose **85**

A amostra KWS (150 mg) foi dissolvida em H₂O (13,5 mL) quente (~ 90 °C). Em seguida TFA 1 M (1,5 mL) foi adicionado em uma única alíquota. A mistura resultante foi aquecida a 65 °C por 3 h, resfriada a temperatura ambiente, diluída com H₂O (15 mL) e então concentrada. O resíduo obtido foi novamente evaporado com tolueno para remoção do TFA. O xarope resultante foi dissolvido em H₂O (2,5 mL) e cromatografado em coluna de gel permeação contendo Sephadex G25 (100 cm × 1,5 cm d.i.). Os oligossacarídeos foram detectados pelo método do fenol-ácido sulfúrico (DUBOIS *et al.*, 1956) e CCD. As CCD foram realizadas utilizando uma mistura de BuOH-AcOH-H₂O (2:2:1) como fase móvel. As frações KA e KB foram agrupadas, concentradas a pressão reduzida e liofilizadas para fornecer κ -carrabiose **84** (31 mg, 12% a partir da *Kappa*-carragenana KWS **4**)* e κ -carratetraose **85** (12 mg, 4% a partir da *Kappa*-carragenana KWS **4**)* respectivamente.

3.4 ANÁLISE POR CLAE DA FORMAÇÃO DE AGAROBIOSE E AGAROTETRAOSE

A amostra AG1 (10 mg) foi dissolvida em H₂O (0,9 mL) quente (~ 90 °C). Em seguida TFA 1 M (0,1 mL) foi adicionado em uma única porção. A mistura resultante foi aquecida a 65 °C por 1, 2, 4, 6 e 8 horas (n = 3 para cada tempo). Após a hidrólise as soluções resultantes foram congeladas e liofilizadas. O hidrolisado resultante (1 mg) foi diluído em H₂O ultra-pura (1 mL) e analisado por cromatógrafo líquido de alta eficiência. As cromatografias foram realizadas em aparelho Shimadzu equipado com detector de índice de refração operando a 40 °C. A separação

* O rendimento foi calculado em função do teor de 3,6-anidro-D-galactose presente na amostra KWS. De acordo com a análise de CG-EM, um grama de KWS contém 2,31 mmol de 3,6-anidro-D-galactose.

cromatográfica foi alcançada utilizando a coluna Ultra-hydrogel (Waters®) 120 (300 × 7,8 mm d.i.). A eluição foi realizada utilizando H₂O ultrapura a 30 °C com fluxo de 0,4 mL.min⁻¹. As amostras foram injetadas manualmente com injetor 7725i (50 µL de capacidade). As curvas de calibração foram obtidas injetando concentrações crescentes (0,25 a 2,0 mg.mL⁻¹) de agarobiose **82** agarotetraose **83** (n = 3 para cada concentração).

3.5 ENSAIO DE ATIVIDADE ANTIHERPÉTICA

Os ensaios de atividade antiviral foram realizados pelo grupo de pesquisa do laboratório de Virologia no Departamento de Química Biológica na Universidade de Buenos Aires, Argentina. Soluções de diferentes concentrações dos derivados **89**, **90**, **91**, **92** e **93** foram testados frente a três cepas de vírus herpes simplex: HSV-1 (F); HSV-2 (G); HSV-2 (MS). Foram determinadas as CI₅₀ (concentração inibitória 50%), comparando as culturas tratadas com as não tratadas conforme descrito por Duarte *et al.* (2004).

3.6 SÍNTESE E SEMI-SÍNTESE DOS DERIVADOS GLICOSÍDEOS

Hidrocloreto de β-D-Galactopiranosil-(1→4)-1-desóxi-1-pentilamino-D-glucitol (88a). Lactose **87** (1,0 g; 2,92 mmol) foi dissolvida em tampão borato 0,5 M pH 8,1 (25 mL) e MeOH (25 mL). A esta mistura foi adicionado *n*-pentilamina **86a** (0,7 mL; 6,40 mmol) e NaBH₃CN (180 mg; 2,86 mmol). A mistura resultante foi aquecida a 55 °C por 15 h, resfriada a temperatura ambiente, e evaporada a pressão reduzida. O xarope resultante foi dissolvido em MeOH (10 mL) e a solução obtida foi vertida em

acetona (200 mL) para que ocorresse precipitação. O precipitado foi filtrado em papel filtro para fornecer um material bruto (1,51 g). O material bruto foi cromatografado em coluna de sílica utilizando EtOH-AcOH-H₂O (18:1:1) como fase móvel. O xarope obtido foi em seguida cromatografado em coluna aniônica (Purolite PFA 400[®], forma Cl⁻) utilizando EtOH como fase móvel para fornecer o composto **88a** (1,05 g, 80%) como um sólido branco amorfo. RMN ¹³C (D₂O, pH 1,0): δ = 104,8; 80,7; 77,3; 74,6; 73,2; 73,1; 72,6; 70,8; 69,8; 64,2; 63,3; 51,6; 50,0; 29,9; 27,0; 23,5; 15,1. ESIMS: 414,3 [M + H]⁺; 436,4 [M + Na]⁺.

Hidrocloreto de β -D-Galactopiranosil-(1 \rightarrow 4)-1-desóxi-1-heptilamino-D-glucitol (88b). O tratamento da lactose **87** (1,0 g; 2,92 mmol) com heptilamina **86b** (1,0 mL; 6,40 mmol) conforme descrito para preparação de **88a** forneceu após cromatografia em sílica gel e troca aniônica o composto **88b** (558 mg; 40%) como um sólido branco amorfo. RMN ¹³C (D₂O, pH 1,0): δ = 104,8; 80,7; 77,3; 74,6; 73,2; 73,1; 72,6; 70,8; 69,8; 64,2; 63,3; 51,6; 50,0; 32,8; 29,8; 27,7; 23,9; 15,4. ESIMS: 442,5 [M + H]⁺.

Hidrocloreto de β -D-Galactopiranosil-(1 \rightarrow 4)-1-desóxi-1-nonilamino-D-glucitol (88c). O tratamento da lactose **87** (1,0 g; 2,92 mmol) com nonilamina **86c** (1,2 mL; 6,40 mmol) conforme descrito para preparação de **88a** forneceu após cromatografia em sílica gel e troca aniônica o composto **88c** (592 mg; 40%) como um sólido branco amorfo. RMN ¹³C (D₂O, pH 1,0): δ = 104,8; 80,7; 77,3; 74,6; 73,2; 73,1; 72,6; 70,8; 69,8; 64,2; 63,3; 51,6; 50,0; 33,2; 30,5; 30,4; 30,3; 27,8; 27,4; 24,1; 15,5. ESIMS: 470,5 [M + H]⁺.

Hidrocloreto de β -D-Galactopiranosil-(1 \rightarrow 4)-1-desóxi-1-dodecilamino-D-glucitol (88d). O tratamento da lactose **87** com dodecilamina **86d** (1,19 g; 6,40 mmol) conforme descrito para preparação de **88a** forneceu após cromatografia em sílica gel e troca aniônica o composto **88d** (801 mg; 50%) como um sólido branco amorfo. RMN ¹³C (D₂O, pH 1,0): δ = 104,8; 81,3; 77,1; 74,4; 73,1; 72,9; 72,2; 70,7; 69,8;

63,9; 63,2; 51,9; 50,0; 33,6; 31,4; 30,9; 28,3; 27,5; 27,3; 24,3; 15,4. ESIMS: 512,6 [M + H]⁺.

Hidrocloreto de β -D-Galactopiranosil-(1 \rightarrow 4)-1-desóxi-1-tetradecilamino-D-glucitol (88e). O tratamento da lactose **87** com tetradecilamina **86e** (1,36 g; 6,40 mmol) conforme descrito para preparação de **88a** forneceu após cromatografia em sílica gel e troca aniônica o composto **88e** (589 mg; 35%) como um sólido branco amorfo. RMN ¹³C (D₂O, pH 1,0): δ = 105,1; 81,6; 77,3; 74,6; 73,3; 73,1; 72,4; 70,9; 70,0; 64,2; 63,4; 52,2; 50,3; 33,9; 31,9; 31,8; 31,7; 31,4; 31,2; 28,6; 27,8; 24,6; 15,8. ESIMS: 540,6 [M + H]⁺.

4-O-Sulfonato- β -D-galactopiranosil-(1 \rightarrow 4)-1-desóxi-1-pentilamino-3,6-anidro-D-galactitol (89). *Kappa*-carrabiose **84** (85 mg; 0,20 mmol) foi dissolvido em MeOH (2,5 mL). A esta mistura foi adicionado *n*-pentilamina **86a** (46 μ L; 0,4 mmol), AcOH (25 μ L, 0,4 mmol) e NaBH₃CN (31 mg; 0,50 mmol). A mistura resultante foi aquecida a 55 °C por 15 h, resfriada a temperatura ambiente, e evaporada a pressão reduzida. O resíduo resultante foi eluído em uma coluna de sílica gel com AcOEt-MeOH-H₂O (9:4:1) para fornecer o composto **89** (53 mg, 55%) como um xarope incolor. RMN ¹³C (D₂O): δ = 103,1; 86,7; 83,8; 76,3; 75,3; 74,6; 72,9; 71,6; 70,6; 66,1; 61,0; 49,6; 47,8; 27,8; 24,9; 21,4; 13,0. ESIMS: 473,6 [M - H]⁻.

N-alkil glicosídeos sulfatados da *Kappa*-carragenana (K5, K7, K9, K12 e K14). A *Kappa*-carragenana **4** (KWS) (2,0 g) foi dissolvida em H₂O (180 mL) quente (~ 90 °C). Em seguida TFA 1 M (20 mL) foi adicionado em uma única alíquota. A mistura resultante foi aquecida a 65 °C por 2 h, resfriada a temperatura ambiente, diluída com H₂O (80 mL) e então concentrada. O resíduo obtido foi novamente evaporado com tolueno para fornecer um hidrolisado (1,7 g). O hidrolisado foi dividido em cinco porções de 300 mg. Cada porção foi dissolvida em tampão borato 0,5 M pH 8,1 (15 mL) e MeOH (15 mL). A estas misturas foram adicionadas as aminas **86a-e** (1,36 mmol) e NaBH₃CN (1,90 mmol). As misturas resultantes foram aquecidas a 55 °C

por 15 h e em seguida resfriadas a temperatura ambiente. As misturas reacionais foram vertidas em acetona (100 mL) para que ocorresse precipitação. Os precipitados foram filtrados em papel filtro e em seguida dialisados em membrana de *cut off* 1000 Da. As diálises foram realizadas primeiro contra água destilada, em seguida contra uma solução de NaCl 0,3 M e novamente contra água destilada. Após liofilização foram obtidas os derivados pentil **K5** (31 mg), heptil **K7** (50 mg), nonil **K9** (64 mg), dodecil **K12** (43 mg) e tetradecil **K14** (45 mg).

β -D-Galactopiranosil-(1 \rightarrow 4)-3,6-anidro-L-galactose dietil ditioacetal (100).

Agarose **3** (5,0 g) foi dissolvida em H₂O (450 mL) quente (~ 90 °C). Em seguida TFA 1 M (50 mL) foi adicionado em uma única alíquota. A mistura resultante foi aquecida a 80 °C por 3 h, resfriada a temperatura ambiente, diluída com H₂O (500 mL) e então concentrada. O resíduo resultante foi dissolvido em H₂O (90 mL), diluído com *i*-PrOH (90 mL) e então filtrado em funil de placa porosa. O filtrado foi concentrado e coevaporado com tolueno três vezes para fornecer um material sólido (4,85 g). Este material foi dissolvido em HCl 37% (7,2 mL) e EtSH (3,2 mL) a 0 °C. A mistura resultante foi agitada a 0 °C por 1 h, neutralizada com NaOH 1 M e mantida em fluxo de nitrogênio para remoção do EtSH que não reagiu. A mistura foi concentrada para fornecer um resíduo sólido. Este resíduo foi suspenso em MeOH (100 mL) e filtrado em funil de placa porosa. O filtrado foi concentrado para fornecer um material bruto (5,01 g) contendo principalmente o composto **100**. Uma pequena parte do material bruto (100 mg) foi eluído de uma coluna de sílica gel com 7:1 AcOEt-MeOH para fornecer **100** (60 mg, 59% a partir da Agarose **3**)* como um sólido branco amorfo. $[\alpha]_D = -16,4$ (c 0,7, MeOH) (Segundo Hirase e Araki (1954), $[\alpha]_D = -20,9$ (c 1,4, MeOH)); $R_f = 0,16$ (7:1 AcOEt-MeOH). RMN ¹H (CD₃OD): $\delta = 4,41$ (d, 1 H, $J_{1',2'} = 7,5$ Hz, H-1'), 4,34 (dd, 1 H, $J_{2,3} = 3,5$, $J_{3,4} = 4,0$ Hz, H-3), 4,29-4,26 (m, 2 H, H-4, H-5), 4,00 (d, 1 H, $J_{1,2} = 8,5$ Hz, H-1), 3,93 (dd, 1 H, $J_{5,6a} = 4,5$, $J_{6a,6b} = 9,5$ Hz, H-6a), 3,86-3,84 (m, 2 H, H-2, H-4'), 3,80-3,70 (m, 3 H, H-6b, H-6a', H-6b'), 3,55-3,50 (m, 2 H, H-5', H-2'), 3,47 (dd, 1 H, $J_{2',3'} = 10,0$, $J_{3',4'} = 3,5$ Hz, H-3'), 2,80-2,61 (m, 4 H, SCH₂CH₃), 1,25, 1,24 (2 t, 6 H, $J = 7,5$ Hz, SCH₂CH₃). RMN ¹³C (CD₃OD): $\delta = 103,0$;

* O rendimento foi calculado em função do teor de 3,6-anidro-L-galactose presente na amostra AG1. De acordo com a análise de CG-EM, um grama de AG1 contém 2,38 mmol de 3,6-anidro-L-galactose.

86,1, 83,9, 75,8; 75,6; 73,8; 73,4; 73,0; 71,2; 68,9; 61,3, 54,4; 24,8; 24,6, 13,7; 13,6. MALDI-TOF MS: 453,1 ($M^+ + Na$). Anal. Calcd para $C_{16}H_{30}O_9S_2$ (430,13): C, 44,64; H, 7,02; S, 14,90. Encontrado: C, 44,66; H, 7,04; S, 14,93.

2,3,4,6-Tetra-O-acetil- β -D-galactopiranosil-(1 \rightarrow 4)-2,5-di-O-acetil-3,6-anidro-L-galactose dietil ditioacetal (101). Uma mistura com o material bruto (125 mg) contendo o composto **100**, piridina (2,2 mL) e Ac_2O (2,0 mL) foi agitada a temperatura ambiente por 12 h. A mistura foi em seguida concentrada e coevaporada com tolueno três vezes. O resíduo obtido foi eluído em uma coluna de sílica gel com 1:1 ciclohexano-AcOEt para fornecer **101** (120 mg, 59% a partir da Agarose **3**) como um xarope incolor. $[\alpha]_D = -7,4$ (c 0,8, $CHCl_3$) (Segundo Hirase e Araki (1954), $[\alpha]_D = -11,8$ (c 1,0, $CHCl_3$)); $R_f = 0,28$ (1:1 ciclohexano-AcOEt). RMN 1H ($CDCl_3$): $\delta = 5,39$ (dd, 1 H, $J_{3',4'} = 3,5$, $J_{4',5'} = 1,0$ Hz, H-4'), 5,35 (dd, 1 H, $J_{1,2} = 9,2$, $J_{2,3} = 2,7$ Hz, H-2), 5,18 (dd, 1 H, $J_{1',2'} = 8,0$, $J_{2',3'} = 10,5$ Hz, H-2'), 5,02 (dd, 1 H, H-3'), 5,00 (m, 1 H, H-5), 4,59 (d, 1 H, H-1'), 4,47 (dd, 1 H, $J_{3,4} = 5,0$ Hz, H-3), 4,22 (dd, 1 H, $J_{5',6b'} = 7,2$, $J_{6a',6b'} = 11,0$ Hz, H-6b'), 4,12 (dd, $J_{5',6a'} = 6,0$ Hz, H-6a'), 4,06 (d, 1 H, H-1), 4,00-3,94 (m, 3 H, H-5', H-6b, H-6a), 3,89 (dd, 1 H, $J_{4,5} = 1,5$ Hz, H-4), 2,78-2,58 (m, 4 H, SCH_2CH_3), 2,14, 2,13, 2,08, 2,06, 2,04, 1,97 (6 s, 18 H, $COCH_3$), 1,26, 1,23 (2 t, 6 H, $J = 7,5$ Hz, SCH_2CH_3). RMN ^{13}C ($CDCl_3$): $\delta = 170,3$; 170,2; 170,1, 169,9, 169,4; 101,6; 86,0; 83,0; 79,5; 72,5; 71,1; 70,9; 70,6; 68,6; 66,9; 61,0; 52,0; 25,0; 24,8; 20,8; 20,7; 20,6; 20,5; 20,4; 14,2; 14,1. MALDI-TOF MS: 721,3 ($M^+ + K$). Anal. Calcd para $C_{28}H_{42}O_{15}S_2$ (682,20): C, 49,26; H, 6,20; S, 9,39. Encontrado: C, 49,29; H, 6,18; S, 9,36.

O procedimento descrito acima foi repetido iniciando de 2,50 g do material bruto contendo **100** para obter 2,40 g de **101**.

2,3,4,6-Tetra-O-benzil- β -D-galactopiranosil-(1 \rightarrow 4)-2,5-di-O-benzil-3,6-anidro-L-galactose dietil ditioacetal (102). O material bruto (4,17 g) contendo o composto **100** (~ 2,51 g; 5,84 mmol) foi dissolvido em DMF (80 mL). A esta solução sob agitação a 0 °C foi adicionado cuidadosamente NaH (2,80 g; 70,1 mmol de uma suspensão 60% em óleo mineral). Após 30 minutos, foi adicionado brometo de

benzila (5,4 mL, 45,5 mmol). A mistura foi agitada a temperatura ambiente por 40 minutos, e então foi tratada com MeOH (10 mL), agitada por mais 10 minutos, diluída com H₂O (100 mL) e extraída com Et₂O (3 × 100 mL). As fases orgânicas obtidas foram agrupadas em uma fração que foi secada com Na₂SO₄, concentrada e eluída em coluna de sílica gel com 5:1 ciclohexano-AcOEt para fornecer o composto **102** (5,1 g; 52% a partir da Agarose **3**) como um sólido branco amorfo. $[\alpha]_D = -3,4$ (c 0,9, CHCl₃); $R_f = 0,19$ (5:1 ciclohexano-AcOEt). RMN ¹H (CDCl₃): $\delta = 7,40$ -7,20 (m, 30 H, Ph), 4,94, 4,89, 4,84, 4,78 (4 d, 5 H, $J = 11,5$ Hz, PhCH₂), 4,72 (s, 2 H, PhCH₂), 4,57, 4,43, 4,39, 4,37 (4 d, 5 H, $J = 11,5$ Hz, PhCH₂), 4,35 (d, 1 H, $J_{1,2'} = 7,5$ Hz, H-1'), 4,33-4,28 (m, 2 H, H-3, H-4), 4,12 (d, 1 H, $J_{1,2} = 5,9$ Hz, H-1), 4,07 (m, 1 H, H-5), 3,95 (dd, 1 H, $J_{5,6b} = 3,0$, $J_{6a,6b} = 9,5$ Hz, H-6b), 3,90 (dd, 1 H, $J_{3',4'} = 3,0$ Hz, H-4'), 3,86 (dd, 1 H, $J_{2,3} = 4,5$ Hz, H-2), 3,80 (dd, 1 H, $J_{5,6a} = 5,0$ Hz, H-6a), 3,76 (dd, 1 H, $J_{2',3'} = 9,5$ Hz, H-2'), 3,57 (dd, 1 H, $J_{5',6b'} = 7,5$, $J_{6a',6b'} = 9,0$ Hz, H-6b'), 3,51 (dd, 1 H, $J_{5',6a'} = 5,0$ Hz, H-6a'), 3,48-3,43 (m, 2 H, H-5', H-3'), 2,70-2,50 (m, 4 H, SCH₂CH₃), 1,27, 1,23 (2 t, 6 H, $J = 7,5$ Hz, SCH₂CH₃). RMN ¹³C (CDCl₃): $\delta = 138,6$; 138,4; 138,3; 137,8; 137,6; 128,4; 128,3; 128,2; 128,1; 128,0; 127,9; 127,8; 127,7; 127,6; 127,5; 127,4; 127,2; 102,6; 84,3; 83,0; 82,0; 81,9; 79,2; 75,1; 74,8; 74,6; 73,5; 73,2; 72,8; 71,4; 71,2; 68,3; 53,3; 26,0; 25,3; 14,4; 14,3. MALDI-TOF MS: 1009,3 (M⁺ + K). Anal. Calcd para C₅₈H₆₆O₉S₂ (970,41): C, 71,72; H, 6,85; S, 6,60. Encontrado: C, 71,70; H, 6,88; S, 6,61.

2,3,4,6-Tetra-O-benzil-β-D-galactopiranosil-(1→4)-2,5-di-O-benzil-3,6-anidro-aldeído-L-galactose (95). Em uma mistura sob agitação a 0 °C contendo o composto **102** (582 mg, 0,60 mmol), THF (1,2 mL) e Et₂O (3 mL) foi adicionado vagarosamente uma solução de H₅IO₆ (274 mg, 1,20 mmol) em THF (0,6 mL). A mistura resultante foi agitada a temperatura ambiente por 20 minutos, diluída com tampão fosfato 1 M pH 6,8 (25 mL) e extraída com Et₂O (80 mL). A fase orgânica foi lavada com solução de Na₂SO₃ 10% (2 × 25 mL), secada (Na₂SO₄) e concentrada para fornecer **95** (467 mg, 90%) como um sólido branco amorfo praticamente puro (~ 95%) conforme indicou a análise por RMN de ¹H. $[\alpha]_D = -28,8$ (c 2,4, CHCl₃); $R_f = 0,26$ (3,3:1 ciclohexano-AcOEt). RMN ¹H (CDCl₃): $\delta = 9,67$ (d, 1 H, H-1), 7,38-7,18 (m, 30 H, Ph), 4,93, 4,86, 4,77 (3 d, 3 H, $J = 12,0$ Hz, PhCH₂), 4,73 (s, 1 H, PhCH₂),

4,70 (d, 2 H, $J = 12,0$ Hz, PhCH_2), 4,61, 4,51 (2 d, 2 H, PhCH_2), 4,42-4,30 (m, 6 H, PhCH_2 , H-4, H-3), 4,21 (dd, 1 H, $J_{1,2} = 1,0$, $J_{2,3} = 3,0$ Hz, H-2), 4,11 (m, 1 H, H-5), 4,09 (d, 1 H, $J_{1',2'} = 8,0$ Hz, H-1'), 3,97 (dd, 1 H, $J_{5,6b} = 4,0$, $J_{6a,6b} = 10,0$ Hz, H-6b), 3,83 (dd, 1 H, $J_{5,6a} = 5,0$ Hz, H-6a), 3,80 (dd, 1 H, H-4'), 3,77 (dd, 1 H, $J_{2',3'} = 10,0$ Hz, H-2'), 3,47 (dd, 1 H, $J_{5',6b'} = 6,5$, $J_{6a',6b'} = 9,5$ Hz, H-6b'), 3,40 (dd, 1 H, $J_{3',4'} = 3,0$ Hz, H-3'), 3,37 (dd, 1 H, $J_{5',6a'} = 6,0$ Hz, H-6a'), 3,27 (ddd, 1 H, H-5'). RMN ^{13}C (CDCl_3): $\delta = 202,5$; 138,6; 138,3; 138,2; 137,8; 137,6; 137,4; 128,4; 128,3; 128,2; 128,1; 127,9; 127,7; 127,6; 127,5; 104,0; 84,9; 83,8; 83,4; 82,2; 81,9; 79,1; 75,1; 74,5; 73,5; 73,4; 73,3; 73,0; 72,9; 71,5; 71,4; 69,2; MALDI-TOF MS: 887,4 ($\text{M}^+ + \text{Na}$). Anal. Calcd para $\text{C}_{54}\text{H}_{56}\text{O}_{10}$ (864,39): C, 74,98; H, 6,53. Found: C, 74,99; H, 6,52.

2,3,4,6-Tetra-O-acetil- β -D-galactopiranosil-(1 \rightarrow 4)-2,5-di-O-acetil-3,6-anidro-

aldeído-L-galactose (103). Em uma mistura sob agitação a 0 °C contendo o composto **101** (409 mg, 0,60 mmol), THF (1,2 mL) e Et_2O (3 mL) foi adicionado vagarosamente uma solução de H_5IO_6 (274 mg, 1,20 mmol) em THF (0,6 mL). A mistura resultante foi agitada a temperatura ambiente por 20 minutos, diluída com tampão fosfato 1 M pH 6,8 (25 mL) e extraída com CHCl_3 (80 mL). A fase orgânica foi lavada com solução de Na_2SO_3 10% (2 \times 25 mL), secada (Na_2SO_4), concentrada e eluída de uma coluna de sílica gel com 1:2 ciclohexano-AcOEt para fornecer o aldeído **103** (197 mg, 57%) num grau de pureza aproximado de 80% conforme a análise de RMN de ^1H . RMN ^1H (CDCl_3): $\delta = 9,58$ (s, 1 H, H-1), 5,41 (d, 1 H, $J_{2,3} = 3,5$ Hz, H-2), 5,39 (dd, 1 H, $J_{3',4'} = 3,5$, $J_{4',5'} = 1,0$ Hz, H-4'), 5,18 (dd, 1 H, $J_{1',2'} = 8,0$, $J_{2',3'} = 10,5$ Hz, H-2'), 5,02 (dd, 1 H, H-3'), 5,00 (ddd, 1 H, H-5), 4,65 (d, 1 H, H-1'), 4,38 (t, 1 H, $J_{3,4} = 4,0$ Hz, H-3), 4,20-4,14 (m, 2 H, H-4, H-6a'), 4,09 (dd, 1 H, $J_{5',6b'} = 6,5$, $J_{6a',6b'} = 11,5$ Hz, H-6b'), 3,99 (dd, 1 H, $J_{5,6b} = 2,0$, $J_{6a,6b} = 10,5$ Hz, H-6b), 3,93 (dd, 1 H, $J_{5,6a} = 4,5$ Hz, H-6a), 3,92 (ddd, 1 H, H-5'), 2,25, 2,18, 2,12, 2,09, 2,04, 2,00 (6 s, 18 H, COCH_3). RMN ^{13}C (CDCl_3): $\delta = 195,9$; 170,4; 170,3; 107,2; 170,0; 169,4; 101,3; 84,1; 82,1; 78,6; 76,4; 71,4; 71,1; 70,6; 68,5; 67,0; 61,4; 61,4; 20,9; 20,6; 20,5. MALDI-TOF MS: 615,6 ($\text{M}^+ + \text{Na}$).

4-O-Sulfonato- β -D-galactopiranosil-(1 \rightarrow 4)-3,6-anidro-D-galactose dietil ditioacetal (104a); e β -D-Galactopiranosil-(1 \rightarrow 4)-3,6-anidro-D-galactose dietil ditioacetal (104b). *Kappa*-carragenana **4** (5,0 g) foi dissolvida em H₂O (450 mL) quente (~ 90 °C). Em seguida TFA 1 M (50 mL) foi adicionado em uma única alíquota. A mistura resultante foi aquecida a 80 °C por 3 h, resfriada a temperatura ambiente, diluída com H₂O (500 mL) e então concentrada. O resíduo resultante foi dissolvido em H₂O (90 mL), diluído com *i*-PrOH (90 mL) e então filtrado em funil de placa porosa. O filtrado foi concentrado e coevaporado com tolueno três vezes para fornecer um material sólido (4,60 g). Este material foi dissolvido em HCl 37% (5,3 mL) e EtSH (3,5 mL) a 0 °C. A mistura resultante foi agitada a 0 °C por 1 h, neutralizada com NaOH 1 M e mantida em fluxo de nitrogênio para remoção do EtSH que não reagiu. A mistura foi concentrada para fornecer um resíduo sólido. Este resíduo foi suspenso em MeOH (100 mL) e filtrado em funil de placa porosa. O filtrado foi concentrado para fornecer um material bruto (5,00 g) contendo os derivados **104a** e **104b**. Uma pequena parte do material bruto (250 mg) foi eluído de uma coluna de sílica gel primeiramente utilizando a mistura 14:2:1 AcOEt-MeOH-H₂O como fase móvel. Em seguida, foi utilizada a mistura 10:2:1 AcOEt-MeOH-H₂O como eluente. A primeira fase móvel forneceu o composto **104b** (25 mg, 10% a partir da *Kappa*-carragenana **4**)* como um sólido branco amorfo. $[\alpha]_D = 7,4$ (c 0,8, MeOH) (Segundo Painter (1960) $[\alpha]_D = 14,0$ (c 2,0, H₂O)); $R_f = 0,30$ (14:2:1 AcOEt-MeOH-H₂O). RMN ¹H (CD₃OD): $\delta = 4,42$ -4,37 (m, 2 H, H-5, H-3), 4,34 (d, 1 H, $J_{1',2'} = 7,5$ Hz, H-1'), 4,16 (dd, 1 H, $J = 3,0$ and 5 Hz, H-4), 4,00 (d, 1 H, $J_{1,2} = 8,5$ Hz, H-1), 3,95 (dd, 1 H, $J_{5,6b} = 5,5$, $J_{6a,6b} = 9,5$ Hz, H-6b), 3,82-3,75 (m, 4 H, H-2, H-4', H-6b', H-6a), 3,70 (dd, 1 H, $J_{5',6a'} = 4,5$, $J_{6a',6b'} = 11,5$ Hz, H-6a'), 3,56 (ddd, 1 H, H-5'), 3,54 (dd, 1 H, $J_{2',3'} = 9,5$ Hz, H-2'), 3,47 (dd, 1 H, $J_{3',4'} = 3,5$ Hz, H-3'), 2,80-2,60 (m, 4 H, SCH₂CH₃), 1,28, 1,27 (2 t, 6 H, $J = 7,5$ Hz, SCH₂CH₃). RMN ¹³C (CD₃OD): $\delta = 104,0$; 87,8; 76,2; 75,8; 73,8; 73,2; 72,1; 71,2; 69,1; 61,5; 54,2; 24,8; 24,6; 13,8; 13,7. MALDI-TOF MS: 453,2 (M⁺ + Na). Anal. Calcd para C₁₆H₃₀O₉S₂ (430,13): C, 44,64; H, 7,02; S, 14,90. Encontrado: C, 44,65; H, 7,01; S, 14,91.

* O rendimento foi calculado em função do teor de 3,6-anidro-D-galactose presente na amostra KWS. De acordo com a análise de CG-EM, um grama de KWS contém 2,31 mmol de 3,6-anidro-D-galactose.

O composto **104a** (147 mg, 48% a partir da *Kappa*-carragenana **4**)* foi eluído com a segunda fase móvel como um sólido branco amorfo. $[\alpha]_D = 7,5$ (c 1,2, MeOH); $R_f = 0,27$ (10:2:1 AcOEt-MeOH-H₂O). RMN ¹H (CD₃OD): $\delta = 4,65$ (dd, 1 H, $J_{3',4'} = 3,5$ Hz, H-4'), 4,40-4,35 (m, 2 H, H-3, H-5), 4,36 (d, 1 H, $J_{1',2'} = 7,5$ Hz, H-1'), 4,14 (dd, 1 H, $J = 3,0$ and $4,5$ Hz, H-4), 4,00 (d, 1 H, $J_{1,2} = 8,5$ Hz, H-1), 3,94 (dd, 1 H, $J_{5,6b} = 5,5$, $J_{6a,6b} = 9,5$ Hz, H-6b), 3,80-3,70 (m, 5 H, H-5', H-2, H-6a, H-6b', H-6a'), 3,62 (dd, 1 H, $J_{2',3'} = 10,0$ Hz, H-3'), 3,53 (dd, 1 H, H-2'), 2,80-2,61 (m, 4 H, SCH₂CH₃), 1,25, 1,24 (2 t, 6 H, $J = 7,5$ Hz, SCH₂CH₃). RMN ¹³C (CD₃OD): $\delta = 105,1$; 88,9; 84,4; 77,4; 76,8; 76,0; 74,4; 73,0; 62,3; 55,8; 26,0; 25,7; 14,9; 14,8. ESI MS: 509,4 (M - H).

2,3,6-Tri-O-acetil-4-O-sulfonato- β -D-galactopiranosil-(1 \rightarrow 4)-2,5-di-O-acetil-3,6-anidro-D-galactose dietil ditioacetal (105a) and 2,3,4,6-Tetra-O-acetil- β -D-galactopiranosil-(1 \rightarrow 4)-2,5-di-O-acetil-3,6-anidro-D-galactose dietil ditioacetal (105b). Uma mistura com o material bruto (200 mg) contendo os compostos **104a** e **104b**, piridina (2,2 mL) e Ac₂O (2,0 mL) foi agitada a temperatura ambiente por 12 h. A mistura foi em seguida concentrada e coevaporada com tolueno três vezes. O resíduo obtido foi eluído em uma coluna de sílica gel com 1:1 ciclohexano-AcOEt, e então com 10:1 AcOEt-MeOH para fornecer primeiro **105b** (31 mg, 10% a partir da *Kappa*-carragenana **4**) como um xarope incolor. $[\alpha]_D = -2,6$ (c 0,6, CHCl₃) (Segundo O'Neill (1955a) $[\alpha]_D = -4,0$ (c 1,2, CHCl₃)); $R_f = 0,3$ (1:1 ciclohexano-AcOEt). RMN ¹H (CDCl₃): $\delta = 5,39$ (dd, 1 H, $J_{3',4'} = 3,5$ Hz, H-4'), 5,31 (ddd, 1 H, H-5), 5,20 (dd, 1 H, $J_{1',2'} = 8,0$ Hz, $J_{2',3'} = 10,5$ Hz, H-2'), 5,12 (dd, 1 H, $J_{1,2} = 9,5$, $J_{2,3} = 2,5$ Hz, H-2), 5,02 (dd, 1 H, H-3'), 4,63 (d, 1 H, H-1'), 4,38 (dd, 1 H, $J_{3,4} = 5,0$ Hz, H-3), 4,13 (dd, 1 H, $J_{5',6b'} = 4,5$, $J_{6a',6b'} = 11,0$ Hz, H-6b'), 4,11 (dd, 1 H, $J_{5',6a'} = 7,0$ Hz, H-6a'), 4,05 (d, 1 H, H-1), 4,02 (dd, 1 H, $J_{5,6a} = 4,5$, $J_{6a,6b} = 10,5$ Hz, H-6a), 3,98-3,92 (m, 3 H, H-4, H-6b, H-5'), 2,78-2,60 (m, 4 H, SCH₂CH₃), 2,21, 2,17, 2,12, 2,10, 2,05, 2,00 (6 s, 18 H, COCH₃), 1,28, 1,27 (2 t, 6 H, $J = 7,5$ Hz, SCH₂CH₃). RMN ¹³C (CDCl₃): $\delta = 170,7$; 170,5; 170,3; 169,8; 101,9; 86,0; 82,5; 79,0; 72,7; 72,3; 71,2; 71,0; 68,7; 67,1; 61,3; 52,3; 25,3; 25,0; 21,2; 21,0; 20,9; 20,8; 14,6; 14,4. MALDI-TOF MS: 721,2 (M⁺ + K). Anal. Calcd para C₂₈H₄₂O₁₅S₂ (682,20): C, 49,26; H, 6,20; S, 9,39. Encontrado: C, 49,29; H, 6,18; S, 9,36.

O composto **105a** (164 mg, 48% a partir da *Kappa*-carragenana **4**) eluído com a segunda fase móvel como um sólido branco amorfo. $[\alpha]_D = 17,9$ (c 2,0, MeOH); $R_f = 0,23$ (10:1 AcOEt-MeOH). RMN 1H (CD₃OD): $\delta = 5,32$ (ddd, 1 H, H-5), 5,19 (dd, 1 H, $J_{1',2'} = 8,0$, $J_{2',3'} = 10,5$ Hz, H-2'), 5,17 (dd, 1 H, $J_{1,2} = 7,8$, $J_{2,3} = 4,0$ Hz, H-2), 4,92 (dd, 1 H, $J_{3',4'} = 3,5$ Hz, H-3'), 4,83 (dd, 1 H, H-4'), 4,71 (d, 1 H, H-1'), 4,40 (dd, 1 H, $J_{6a',6b'} = 12,0$, $J_{5',6a'} = 4,5$ Hz, H-6a'), 4,31 (t, 1 H, $J = 4,0$ Hz, H-3), 4,23 (dd, 1 H, $J_{5',6b'} = 7,5$ Hz, H-6b'), 4,13 (dd, 1 H, $J_{3,4} = 4,0$ Hz, H-4), 4,09 (d, 1 H, H-1), 4,00 (dd, 1 H, $J_{5,6a} = 4,5$, $J_{6a,6b} = 10,5$ Hz, H-6a), 3,99 (ddd, 1 H, H-5'), 3,86 (dd, 1 H, H-6b), 2,80-2,60 (m, 4 H, SCH₂CH₃), 2,14, 2,11, 2,10, 2,06, 2,05 (5 s, 15 H, COCH₃), 1,29, 1,27 (2 t, 6 H, $J = 7,5$ Hz, SCH₂CH₃). RMN ^{13}C (CD₃OD): $\delta = 172,6$; 172,0; 171,7; 171,2; 102,9; 86,6; 84,1; 80,0; 74,1; 73,5; 73,0; 72,8; 70,2; 64,6; 53,0; 26,1; 26,0; 21,0; 20,9; 14,8; 14,6. ESI MS: 719,8 (M - H).

2,3,6-Tri-O-benzil-4-O-sulfonato- β -D-galactopiranosil-(1 \rightarrow 4)-2,5-di-O-benzil-3,6-anidro-D-galactose dietil ditioacetal (106a). O tratamento do material bruto (3,0 g) contendo **104a** (~ 1,77 g, 3,32 mmol) e **104b** (~ 298 mg, 0,69 mmol) como descrito na preparação de **102** forneceu após cromatografia em coluna de sílica gel (10:1 AcOEt-MeOH) o composto **106a** (2,78 g, 41% a partir da *Kappa*-carragenana **4**) como um sólido amarelo amorfo. $[\alpha]_D = 30,7$ (c 1,0, MeOH); $R_f = 0,50$ (10:1 AcOEt-MeOH). RMN 1H (CD₃OD): $\delta = 7,50$ -7,20 (m, 25 H, Ph), 4,97 (d, 1 H, $J = 11,5$ Hz, PhCH₂), 4,91 (dd, 1 H, $J_{3',4'} = 2,0$ Hz, H-4'), 4,81, 4,73, 4,70, 4,65, 4,56 (5 d, 5 H, $J = 11,5$ Hz, PhCH₂), 4,55-4,52 (m, 2 H, H-1', H-4), 4,52, 4,49, 4,48 (3 d, 4 H, $J = 11,5$ Hz, PhCH₂), 4,35 (dd, 1 H, $J_{2,3} = 5,5$, $J_{3,4} = 3,0$ Hz, H-3), 4,29 (ddd, 1 H, H-5), 4,00 (d, 1 H, $J_{1,2} = 5,0$ Hz, H-1), 3,99 (dd, 1 H, H-6b), 3,90 (dd, 1 H, $J_{5',6a'} = 4,5$, $J_{6a',6b'} = 10,5$ Hz, H-6a'), 3,89 (dd, 1 H, $J_{5,6a} = 4,5$, H-6a), 3,88 (dd, 1 H, H-2), 3,81 (dd, 1 H, $J_{5',6b'} = 7,5$ Hz, H-6b'), 3,66 (dd, 1 H, H-5'), 3,57-3,54 (m, 2 H, H-2', H-3'), 2,60-2,40 (m, 4 H, SCH₂CH₃), 1,09, 1,05 (2 t, 6 H, $J = 7,5$ Hz, SCH₂CH₃). RMN ^{13}C (CD₃OD): $\delta = 139,0$; 138,6; 138,5; 138,4; 128,4; 128,2; 128,1; 128,0; 127,9; 127,8; 127,4; 127,3; 127,2; 103,2; 86,1; 84,3; 83,7; 81,3; 79,8; 78,6; 74,9; 74,7; 73,6; 73,1; 73,0; 71,7; 71,5; 71,3; 70,3; 53,3; 25,5; 25,3; 13,7; 13,5. ESI MS: 960,1 (M - H).

2,3,4,6-Tetra-O-benzil- β -D-galactopiranosil-(1 \rightarrow 4)-2,5-di-O-benzil-3,6-anidro-D-galactose dietil ditioacetal (106b). Rota A (Esquema 21). O tratamento do material bruto (3,0 g) contendo **104a** (~ 1,77 g, 3,32 mmol) e **104b** (~ 298 mg, 0,69 mmol) como descrito na preparação de **102** forneceu após cromatografia em coluna de sílica gel (5:1 ciclohexano-AcOEt) o composto **106b** (469 mg, 7% a partir da *Kappa*-carragenana **4**) como um xarope incolor. $[\alpha]_D = 7,1$ (c 0,5, CHCl₃); $R_f = 0,41$ (5:1 ciclohexano-AcOEt). RMN ¹H (CDCl₃): $\delta = 7,40$ -7,20 (m, 30 H, Ph), 4,93, 4,89, 4,79, 4,72, 4,71, 4,68, 4,61 (7 d, 8 H, $J = 12,0$ Hz, PhCH₂), 4,52-4,45 (m, 4 H, H-4, H-1', 2 PhCH₂), 4,38 (t, 1 H, $J_{2,3} = 4,5$ Hz, H-3), 4,50 (s, 2 H, PhCH₂), 4,28 (m, 1 H, H-5), 4,03 (d, 1 H, $J_{1,2} = 5,5$ Hz, H-1), 4,02 (dd, 1 H, H-6b), 3,91 (dd, 1 H, $J_{5,6a} = 4,5$, $J_{6a,6b} = 10,0$ Hz, H-6a), 3,88 (dd, 1 H, $J_{3',4'} = 3,0$ Hz, H-4'), 3,84 (t, 1 H, H-2), 3,78 (dd, 1 H, $J_{1',2'} = 8,0$, $J_{2',3'} = 9,5$ Hz, H-2'), 3,54 (dd, 1 H, $J_{5',6b'} = 9,0$, $J_{6a',6b'} = 10,5$ Hz, H-6b'), 3,48-3,42 (m, 3 H, H-6a', H-5', H-3'), 2,70-2,50 (m, 4 H, SCH₂CH₃), 1,19, 1,16 (2 t, 6 H, $J = 7,5$ Hz, SCH₂CH₃). RMN ¹³C (CDCl₃): $\delta = 138,7$; 138,6; 138,5; 138,2; 137,8; 128,4; 128,3; 128,2; 128,1; 127,9; 127,8; 127,5; 127,4; 127,3; 103,2; 85,0; 84,2; 83,8; 82,2; 81,3; 79,1; 75,; 74,6; 74,5; 73,4; 73,3; 73,2; 73,1; 71,7; 71,2; 68,4; 53,2; 25,6; 25,4; 14,4; 14,2. MALDI-TOF MS: 993,4 (M⁺ + Na). Anal. Calcd para C₅₈H₆₆O₉S₂ (970,41): C, 71,72; H, 6,85; S, 6,60. Encontrado C, 71,71; H, 6,87; S, 6,61.

Rota B (Esquema 23). Em uma solução de DMF (5,0 mL) contendo o composto **109** (476 mg; 0,50 mmol) a 0 °C foi adicionado cuidadosamente NaH (40 mg; 1,00 mmol de uma suspensão 60% em óleo mineral). Após 30 minutos, foi adicionado brometo de benzila (77 μ L, 0,65 mmol). A mistura foi agitada a temperatura ambiente por 40 minutos, e então foi tratada com MeOH (1,0 mL), agitada por mais 10 minutos, diluída com H₂O (20 mL) e extraída com Et₂O (3 \times 50 mL). As fases orgânicas obtidas foram agrupadas em uma única fração que foi secada (Na₂SO₄), concentrada e eluída em coluna de sílica gel com 5:1 ciclohexano-AcOEt para fornecer o composto **106b** (427 mg, 88%).

2,3,6-Tri-O-benzil- β -D-galactopiranosil-(1 \rightarrow 4)-2,5-di-O-benzil-3,6-anidro-aldeído-D-galactose (107). O tratamento de **106a** como descrito na preparação de **95** forneceu o composto **107** (128 mg, 83%) num grau de pureza de 95% conforme a

análise de RMN de ^1H . RMN ^1H (acetona- d_6): δ = 9,63 (d, 1 H, H-1), 7,50-7,20 (m, 25 H, Ph), 4,83, 4,77, 4,76, 4,74, 4,66, 4,63, 4,56 (7 d, 7 H, J = 12,0 Hz, PhCH_2), 4,54-4,50 (m, 4 H, 3 PhCH_2 , H-4), 4,52 (d, 1 H, $J_{1',2'} = 8,0$ Hz, H-1'), 4,31 (ddd, 1 H, H-5), 4,21 (t, 1H, J = 4,5 Hz, H-3), 4,17 (dd, 1 H, $J_{2,3} = 5,0$ Hz, H-2), 4,13 (dd, 1 H, $J_{3',4'} = 3,5$ Hz, H-4'), 3,96 (dd, 1 H, $J_{5,6b} = 2,0$, $J_{6a,6b} = 10,0$ Hz, H-6b), 3,87 (dd, 1 H, $J_{5,6a} = 4,5$ Hz, H-6a), 3,76 (dd, 1 H, $J_{5',6a'} = 5,0$, $J_{6a',6b'} = 10,0$ Hz, H-6a'), 3,64 (dd, 1 H, $J_{5',6b'} = 3,0$ Hz, H-6b'), 3,64 (ddd, 1 H, H-5'), 3,62 (dd, 1 H, $J_{2',3'} = 9,5$ Hz, H-2'), 3,52 (dd, 1 H, H-3'). RMN ^{13}C (acetona- d_6): δ = 201,4; 139,6; 139,2; 139,0; 138,8; 138,3; 128,5; 128,4; 128,3; 128,2; 128,0; 127,9; 127,8; 127,5; 103,7; 84,2; 83,9; 83,6; 82,6; 81,4; 78,8; 74,8; 73,6; 73,1; 72,9; 72,0; 71,4; 70,9; 69,6; 66,2.

O derivado tricloroacetil carbamato de **107** foi gerado no tubo de RMN após a adição de tricloroacetil isocianato (5 μL) numa solução de CDCl_3 de **107** (~ 10 mg).

2,3,6-Tri-O-benzil-4-O-sulfonato- β -D-galactopiranosil-(1 \rightarrow 4)-2,5-di-O-benzil-3,6-anidro-D-aldeído-galactose (99). Em uma solução resfriada (0 $^\circ\text{C}$) de nitrito de sódio (104 mg, 1,50 mmol) em CH_2Cl_2 (4,0 mL), AcCl (107 μL , 1,50 mmol) foi adicionado vagarosamente. A mistura resultante foi agitada a 0 $^\circ\text{C}$ por 10 minutos e então uma solução de **106a** (492 mg, 0,50 mmol) em CH_2Cl_2 (3,0 mL) foi vertida vagarosamente. Esta mistura foi agitada a 0 $^\circ\text{C}$ por mais 5 minutos e então diluída com tampão fosfato 1 M pH 6,8 (2,0 mL). A mistura heterogênea resultante foi agitada a mesma temperatura por 1 h e depois extraída com Et_2O (80 mL). A fase orgânica foi lavada com tampão fosfato 1 M pH 6,8 (3 \times 25 mL), concentrada e eluída de uma coluna de sílica gel com 15:1 AcOEt-MeOH para fornecer o aldeído **99** (385 mg, 88%) na sua forma hidratada como um xarope incolor. R_f = 0,34 (15:1 AcOEt-MeOH). RMN ^1H ($\text{DMSO}-d_6$) dado selecionado: δ = 9,55 (s, 1 H, CHO). ESI MS: 853,3 (M - H).

2,3,6-Tri-O-benzil-4-O-sulfonato- β -D-galactopiranosil-(1 \rightarrow 4)-2,5-di-O-benzil-3,6-anidro-D-galactitol (108). Em uma solução contendo o aldeído **99** (88 mg, 0,10 mmol) em MeOH (5,0 mL), NaBH_4 (8 mg, 0,20 mmol) foi adicionado numa única alíquota. A mistura resultante foi agitada a temperatura ambiente por 1 h, diluída

com AcOH (0,50 mL), agitada por mais 10 minutos, concentrada e então eluída em uma coluna de sílica gel com 15:1 AcOEt-MeOH para fornecer **108** (66 mg, 75%) como um sólido branco amorfo. $[\alpha]_D = 38,5$ (c 0,8, acetona); $R_f = 0,20$ (15:1AcOEt-MeOH). RMN ^1H (CD_3OD): $\delta = 7,50\text{-}7,10$ (m, 25 H, Ph), 4,97 (d, 1 H, $J = 12,0$ Hz, PhCH_2), 4,85 (dd, 1 H, $J_{3',4'} = 3,0$ Hz, H-4'), 4,73, 4,70, 4,64 (3 d, 3 H, $J = 12,0$ Hz, PhCH_2), 4,60 (s, 1 H, PhCH_2), 4,55, 4,53, 4,51, 4,45 (4 d, 5 H, $J = 12,0$ Hz, PhCH_2), 4,35 (dd, 1 H, $J_{3,4} = 4,0$ Hz, H-4), 4,31 (d, 1 H, $J_{1',2'} = 7,5$ Hz, H-1'), 4,21 (ddd, 1 H, H-5), 3,98 (t, 1 H, H-3), 3,94 (dd, 1 H, $J_{6a,6b} = 10,0$ Hz, H-6b), 3,88 (dd, 1 H, $J_{5',6a'} = 4,5$, $J_{6a',6b'} = 10,5$ Hz, H-6a'), 3,81 (dd, 1 H, $J_{5,6a} = 4,5$ Hz, H-6a), 3,78 (dd, 1 H, $J_{5',6b'} = 7,5$ Hz, H-6b'), 3,69 (dd, 1 H, $J_{1a,2} = 3,5$, $J_{1a,1b} = 10,0$ Hz, H-1a), 3,65 (ddd, 1 H, H-2), 3,60 (dd, 1 H, $J_{1b,2} = 5,5$ Hz, H-1b), 3,55 (dd, 1 H, $J_{2',3'} = 9,5$ Hz, H-2'), 3,51 (ddd, 1 H, H-5'), 3,45 (dd, 1 H, H-3'). RMN ^{13}C (CD_3OD): $\delta = 140,2$; 140,0; 139,7; 139,6; 129,5; 129,4; 129,3; 129,1; 129,0; 128,9; 128,6; 128,5; 128,4; 104,2 86,1; 85,5; 84,6; 80,8; 79,9; 79,7; 76,2; 74,7; 74,3; 74,0; 73,0; 72,3; 72,2; 71,5; 62,8. ESI MS: 855,8 (M - H).

2,3,6-Tri-O-benzil-4-O-trimetilsilil- β -D-galactopiranosil-(1 \rightarrow 4)-2,5-di-O-benzil-3,6-anidro-D-galactose dietil ditioacetal (109). Um mistura do composto **106a** (659 mg, 0,67 mmol), clorotrimetilsilano (4,3 mL, 33,5 mmol) e piridina (10 mL) foi aquecida a 100 °C. A mistura foi agitada nesta temperatura por 3 h, resfriada a temperatura ambiente, concentrada e coevaporada com tolueno três vezes. O resíduo resultante foi eluído em uma coluna de sílica gel com 8:1 ciclohexano-AcOEt para fornecer **109** (498 mg, 78%) como um xarope incolor. $[\alpha]_D = 18,6$ (c 0,6, CHCl_3); $R_f = 0,28$ (8:1 ciclohexano-AcOEt). RMN ^1H (CDCl_3): $\delta = 7,40\text{-}7,20$ (m, 25 H, Ph), 4,86, 4,79, 4,71, 4,70, 4,68, 4,67 (6 d, 6 H, $J = 11,5$ Hz, PhCH_2), 4,51-4,46 (m, 4 H, 3 PhCH_2 , H-4), 4,44 (d, 1 H, $J_{1',2'} = 8,0$ Hz, H-1'), 4,42 (d, 1 H, $J = 11,5$ Hz, PhCH_2), 4,40 (t, 1 H, H-3), 4,29 (ddd, 1 H, H-5), 4,06 (dd, 1 H, $J_{3',4'} = 3,0$ Hz, H-4'), 4,04 (d, 1 H, $J_{1,2} = 6,0$ Hz, H-1), 4,03 (dd, 1 H, H-6b), 3,92 (dd, 1 H, $J_{5,6a} = 4,5$, $J_{6a,6b} = 10,0$ Hz, H-6a), 3,82 (dd, 1 H, $J_{2,3} = 4,5$ Hz, H-2), 3,66 (dd, 1 H, $J_{2',3'} = 9,5$ Hz, H-2'), 3,60 (dd, 1 H, $J_{5',6a'} = 9,0$, $J_{6a',6b'} = 10,0$ Hz, H-6a'), 3,44 (dd, 2 H, H-5', H-6b'), 3,28 (dd, 1 H, H-3'), 2,70-2,51 (m, 4 H, SCH_2CH_3), 1,19, 1,16 (2 t, 6 H, $J = 7,5$ Hz, SCH_2CH_3), 0,10 (s, 9 H, SiCH_3). RMN ^{13}C (CDCl_3): $\delta = 138,7$; 138,4; 138,3; 138,2; 137,9; 128,4; 128,3; 128,2; 128,1; 128,0; 127,8; 127,5; 127,4; 103,4; 84,9; 84,0; 81,3; 81,1; 78,6; 74,8; 74,5; 73,6; 73,5;

71,7; 71,2; 68,7; 68,5; 53,2; 25,6; 25,5; 14,4; 14,2; 0,6. MALDI-TOF MS: 975,3 ($M^+ + Na$). Anal. Calcd para $C_{54}H_{68}O_9S_2Si$ (952,41): C, 68,03; H, 7,19; S, 6,73; Si, 2,95. Encontrado: C, 68,01; H, 7,18; S, 6,71; Si, 2,93.

O composto **109** decompõe-se facilmente através da perda do grupo TMS quando armazenado a temperatura ambiente.

2,3,4,6-Tetra-O-benzil- β -D-galactopiranosil-(1 \rightarrow 4)-2,5-di-O-benzil-3,6-anidro-aldeído-D-galactose (98).

O tratamento de **106b** (427 mg, 0,44 mmol) como descrito na preparação de **95** forneceu **98** (342 mg, 90%) como um xarope num grau de pureza de 95% conforme indicou a análise e RMN de 1H . $[\alpha]_D = 6,3$ (c 1,0, $CHCl_3$). RMN 1H ($CDCl_3$): δ = 9,59 (d, 1 H, $J_{1,2} = 1,0$ Hz, H-1), 7,40-7,20 (m, 30 H, Ph), 4,94, 4,81, 4,76, (3 d, 3 H, $J = 12,0$ Hz, $PhCH_2$), 4,73 (s, 3 H, $PhCH_2$), 4,72, 4,64, 4,55, 4,54, 4,45 (5 d, 5 H, $J = 12,0$ Hz, $PhCH_2$), 4,40-4,38 (d, 2 H, H-4, $PhCH_2$), 4,31 (d, 1 H, $J_{1',2'} = 8,0$ Hz, H-1'), 4,26 (m, 1 H, H-5), 4,18 (dd, 1 H, $J_{2,3} = 5,5$, $J_{3,4} = 3,5$ Hz, H-3), 4,04 (dd, 1 H, H-6b), 4,01 (dd, 1 H, H-2), 3,90 (dd, 1 H, H-4'), 3,88 (dd, 1 H, $J_{5,6a} = 4,0$, $J_{6a,6b} = 10,0$ Hz, H-6a), 3,77 (dd, 1 H, $J_{2',3'} = 9,5$ Hz, H-2'), 3,56 (dd, 1 H, $J_{5',6b'} = 5,5$, $J_{6a',6b'} = 9,0$ Hz, H-6b'), 3,49 (dd, 1 H, $J_{5',6a'} = 5,5$ Hz, H-6a'), 3,47-3,42 (m, 2 H, H-5', H-3'). RMN ^{13}C ($CDCl_3$): δ = 202,0; 138,8; 138,6; 138,1; 138,0; 137,4; 128,6; 128,5; 128,4; 128,2; 128,1; 128,0; 127,9; 127,8; 103,8; 84,2; 83,5; 83,4; 82,4; 82,1; 79,3; 75,4; 74,8; 73,7; 73,5; 73,3; 73,2; 72,5; 71,2; 68,7. MALDI-TOF MS: 887,3 ($M^+ + Na$). Anal. Calcd para $C_{54}H_{56}O_{10}$ (864,39): C, 74,98; H, 6,53. Encontrado: C, 74,99; H, 6,52.

3,6-Anidro-L-galactose dietil ditioacetal (110). Uma mistura de Agarose **3** (6,0 g), EtSH (9,0 mL), HCl 37% (3,0 mL) e MeOH (48 mL) foi aquecida a 60 °C sob agitação por 17 h. A mistura foi resfriada a temperatura ambiente, neutralizada com NaOH 1 M e mantida sob fluxo de nitrogênio para remover o excesso de EtSH. Esta mistura foi concentrada e o resíduo obtido foi dissolvido em H_2O (80 mL). Esta solução aquosa foi extraída com Et_2O (5×100 mL). As fases orgânicas obtidas foram agrupadas em uma única fração que foi secada com Na_2SO_4 e concentrada. O extrato bruto (3,18 g) obtido continha principalmente o derivado ditioacetal **110**. Uma

pequena parte do extrato bruto (140 mg) foi eluído em uma coluna de sílica gel com 1,3:3 ciclohexano-AcOEt para fornecer **110** (94 mg, 56% a partir da Agarose **3**)* como um sólido amorfo branco. $[\alpha]_D = -14,9$ (c 0,4, MeOH); $[\alpha]_D = 10,0$ (c 1,0, H₂O); (Segundo Araki e Hirase (1953) $[\alpha]_D = 14,4$ (c 1,2, H₂O); $R_f = 0,28$ (1:3.3 ciclohexano-AcOEt). RMN ¹H (acetona-*d*₆): $\delta = 4,21$ (t, 1 H, H-3), 4,11 (t, 1 H, H-4), 4,02 (ddd, 1 H, H-5), 3,97 (d, 1 H, $J_{1,2} = 8,5$ Hz, H-1), 3,87 (dd, 1 H, $J_{5,6a} = 4,0$, $J_{6a,6b} = 9,5$ Hz, H-6a), 3,74 (dd, 1 H, $J_{5,6b} = 2,0$ Hz, H-6b), 3,72 (dd, 1 H, $J_{2,3} = 2,5$ Hz, H-2), 2,75-2,60 (m, 4 H, SCH₂CH₃), 1,21, 1,20 (2 t, 6 H, $J = 7,5$ Hz, SCH₂CH₃). RMN ¹³C (acetona-*d*₆): $\delta = 85,5$; 79,2; 77,3; 73,7; 73,6; 54,7; 24,9; 24,8; 14,2; 14,1. MALDI-TOF MS: 307,1 (M⁺ + K). Anal. Calcd para C₁₀H₂₀O₄S₂ (268,08): C, 44,75; H, 7,51; S, 23,89. Encontrado: C, 44,77; H, 7,52; S, 23,91.

3,6-Anidro-D-galactose dietil ditioacetal (ent-110). O tratamento de *Kappa*-carragenana **4** (6,0 g) conforme descrito para preparação de **110** forneceu um extrato bruto (2,60) contendo principalmente o derivado ditioacetal **ent-110**. Uma pequena quantidade do extrato bruto (240 mg) foi eluído em uma coluna de sílica gel com 1,3:3 ciclohexano-AcOEt para fornecer **ent-110** (102 mg, 30% a partir da *Kappa*-carragenana **4**)[§] como xarope incolor. $[\alpha]_D = 14,6$ (c 0,4, MeOH); $[\alpha]_D = -10,6$ (c 1,1, H₂O) (Segundo O'Neill (1955b) $[\alpha]_D = -10,0$ (c 1,0, H₂O). Anal. Calcd para C₁₀H₂₀O₄S₂ (268,08): C, 44,75; H, 7,51; S, 23,89. Encontrado: C, 44,75; H, 7,51; S, 23,94.

2,4,5-Tri-O-acetil-3,6-anidro-L-galactose dietil ditioacetal (111). O tratamento do extrato bruto (200 mg) contendo **110** como descrito para preparação de **101** forneceu após cromatografia em coluna de sílica gel (3:1 ciclohexano-AcOEt) **111** (198 mg, 56% a partir da Agarose **3**). $[\alpha]_D = 9,0$ (c 2,5, CHCl₃); $R_f = 0,30$ (3:1

* O rendimento foi calculado em função do teor de 3,6-anidro-L-galactose presente na amostra AG1. De acordo com a análise de CG-EM, um grama de AG1 contém 2,38 mmol de 3,6-anidro-L-galactose.

§ O rendimento foi calculado em função do teor de 3,6-anidro-D-galactose presente na amostra KWS. De acordo com a análise de GC-EM, um grama de KWS contém 2,31 mmol de 3,6-anidro-D-galactose.

ciclohexano-AcOEt). RMN ^1H (CDCl_3): δ = 5,40 (dd, 1 H, $J_{1,2}$ = 8,0, $J_{2,3}$ = 4,0 Hz, H-2), 5,19 (ddd, 1 H, $J_{4,5}$ = 1,5, $J_{5,6b}$ = 2,5, $J_{5,6a}$ = 5,0 Hz, H-5), 5,03 (ddd, 1 H, $J_{3,4}$ = 4,0 Hz, H-4), 4,47 (t, 1 H, H-3), 4,12 (d, 1 H, H-1), 4,11 (dd, 1 H, $J_{6a,6b}$ = 11,0 Hz, H-6b), 4,00 (dd, 1 H, H-6a), 2,81-2,63 (m, 4 H, SCH_2CH_3), 2,19, 2,12, 2,11 (3 s, 9 H, COCH_3), 1,29, 1,26 (2 t, 6 H, J = 7,5 Hz, SCH_2CH_3). RMN ^{13}C (CDCl_3): δ = 170,1; 170,0; 82,5; 78,9; 78,2; 72,5; 72,1; 52,0; 25,1; 24,7; 20,9; 20,8; 14,3; 14,1. MALDI-TOF MS: 433,1 (M^+ + K). Anal. Calcd para $\text{C}_{16}\text{H}_{26}\text{O}_7\text{S}_2$ (394,11): C, 48,71; H, 6,64; S, 16,26. Encontrado: C, 48,73; H, 6,67; S, 16,24.

2,4,5-Tri-O-acetil-3,6-anidro-D-galactose dietil ditioacetal (*ent*-111). O tratamento do extrato bruto (200 mg) contendo **ent**-110 como descrito para preparação de **101** forneceu após cromatografia em coluna de sílica gel (3:1 ciclohexano-AcOEt) **ent**-111 (126 mg, 30% a partir da *Kappa*-carragenana **4**). $[\alpha]_{\text{D}} = -9,4$ (c 2,3, CHCl_3); MALDI-TOF MS: 417,1 (M^+ + Na). Anal. Calcd para $\text{C}_{16}\text{H}_{26}\text{O}_7\text{S}_2$ (394,11): C, 48,71; H, 6,64; S, 16,26. Encontrado: C, 48,69; H, 6,62; S, 16,25.

2,4,5-Tri-O-benzil-3,6-anidro-L-galactose dietil ditioacetal (112**).** O tratamento do extrato bruto (2,31 g) contendo **110** (~ 1,56 g, 5,81 mmol) conforme descrito na preparação de **102** forneceu após cromatografia em coluna de sílica gel (15:1 ciclohexano-AcOEt) **112** (2,80 g, 50% a partir da Agarose **3**) como um xarope incolor. $[\alpha]_{\text{D}} = -29,3$ (c 0,6, CHCl_3); $R_f = 0,17$ (15:1 ciclohexano-AcOEt). RMN ^1H (CDCl_3): δ = 4,83, 4,62, 4,56, 4,51, 4,48, 4,47 (6 d, 6 H, J = 12,0 Hz, PhCH_2), 4,30 (t, 1 H, $J_{2,3}$ = 5,0 Hz, H-3), 4,14-4,09 (m, 2 H, H-4, H-5), 4,02 (dd, 1 H, $J_{5,6b}$ = 2,5, $J_{6a,6b}$ = 10,0 Hz, H-6b), 3,99 (d, 1 H, $J_{1,2}$ = 5,5 Hz, H-1), 3,91 (dd, 1 H, $J_{5,6a}$ = 4,5 Hz, H-6a), 3,76 (t, 1 H, H-2), 2,73-2,53 (m, 4 H, SCH_2CH_3), 1,21, 1,18 (2 t, 6 H, J = 7,5 Hz, SCH_2CH_3). RMN ^{13}C (CDCl_3): δ = 138,3; 137,8; 128,4; 128,2; 128,0; 127,9; 127,8; 127,7; 127,5; 84,2; 83,6; 81,9; 74,7; 71,8; 71,4; 71,3; 53,1; 25,6; 25,5; 14,4; 14,3. MALDI-TOF MS: 561,2 (M^+ + Na). Anal. Calcd para $\text{C}_{31}\text{H}_{38}\text{O}_4\text{S}_2$ (538,22): C, 69,11; H, 7,11; S, 11,90. Encontrado: C, 69,12; H, 7,14; S, 11,91.

2,4,5-Tri-O-benzil-3,6-anidro-D-galactose dietil ditioacetal (*ent*-112). O tratamento do extrato bruto (2,20 g) contendo ***ent*-110** (~ 943 mg, 3,52 mmol) conforme descrito na preparação de **102** forneceu após cromatografia em coluna de sílica gel (15:1 ciclohexano-AcOEt) ***ent*-112** (1,77 g, 28%% a partir da *Kappa*-carragenana **4**) como um xarope incolor. $[\alpha]_D = 28,9$ (c 0,5, CHCl₃); $R_f = 0,17$ (15:1 ciclohexano-AcOEt). MALDI-TOF MS: 561,6 ($M^+ + Na$). Anal. Calcd para C₃₁H₃₈O₄S₂ (538,22): C, 69,11; H, 7,11; S, 11,90. Encontrado: C, 69,14; H, 7,13; S, 11,92.

2,4,5-Tri-O-benzil-3,6-anidro-aldeído-L-galactose (96) and 2,4,5-Tri-O-benzil-3,6-anidro-aldeído-D-galactose (*ent*-96). O tratamento de **112** ou ***ent*-112** (1,22 g, 2,26 mmol) conforme descrito na preparação de **95** forneceu **96** ou ***ent*-96** (0,94 g, 95%) como um xarope incolor num grau de pureza de 95% conforme indicaram as análises de RMN de ¹H. Dados para o composto **96**: $[\alpha]_D = -24,4$ (c 1,0, CHCl₃); $R_f = 0,26$ (5:1 ciclohexano-AcOEt). ¹H RMN (CDCl₃): $\delta = 9,68$ (d, 1 H, $J_{1,2} = 1,4$ Hz, H-1), 7,40-7,20 (m, 15 H, Ph), 4,74, 4,56, 4,48, 4,45, 4,43 (5 d, 6 H, $J = 12,0$ Hz, PhCH₂), 4,17-4,10 (m, 2 H, H-5, H-3), 4,07-4,01 (m, 2 H, H-4, H-6b), 3,97 (dd, 1 H, $J_{2,3} = 5,0$ Hz, H-2), 3,88 (dd, 1 H, $J_{5,6a} = 4,8$, $J_{6a,6b} = 10,5$ Hz, H-6a). ¹³C RMN (CDCl₃): $\delta = 202,0$; 137,5; 137,0; 128,5; 128,4; 128,3; 128,2 127,8; 127,7; 83,4; 83,0; 82,6; 82,3; 73,2; 71,9; 71,9; 71,1. MALDI-TOF MS: 471,3 ($M^+ + K$). Anal. Calcd para C₂₇H₂₈O₅ (432,19): C, 74,98; H, 6,53. Encontrado: C, 75,00; H, 6,54. ***ent*-96**: $[\alpha]_D = 24,6$ (c 1,0, CHCl₃). MALDI-TOF MS: 471,8 ($M^+ + K$). Anal. Calcd para C₂₇H₂₈O₅ (432,19): C, 74,98; H, 6,53. Encontrado: C, 75,04; H, 6,52.

3,6-Anidro-L-galactitol (114).* Agarose **3** (10 g) foi dissolvida em H₂O (900 mL) quente (~ 90 °C). Em seguida TFA 1 M (100 mL) foi adicionado em uma única alíquota. A mistura resultante foi aquecida a 80 °C por 3 h, resfriada a temperatura ambiente, diluída com H₂O (800 mL) e então concentrada. O resíduo obtido foi concentrado e coevaporado com tolueno três vezes para fornecer um xarope

* Para evitar confusão a nomenclatura do composto **114** será mantida de acordo com a do seu precursor 3,6-anidro-L-galactose. Na verdade, a correta nomenclatura do composto **114** é 1,4-anidro-D-galactitol.

amarelado. Este material foi dissolvido em H₂O (100 mL), resfriado a 0 °C, e então NaBH₄ (1,90 g, 50,0 mmol) foi adicionado numa única porção. A mistura resultante foi agitada a temperatura ambiente por 1 h, diluída com AcOH (~ 4,0 mL, pH ~ 4,0), agitada por mais 10 minutos e concentrada. O resíduo foi coevaporado com MeOH (3 × 50 mL) para fornecer um resíduo contendo o dissacarídeo agarobiitol **113**. Este material bruto foi dissolvido em numa solução de TFA 2 M (250 mL) e a mistura resultante foi aquecida a 120 °C por 3 h, resfriada a temperatura ambiente, diluída com H₂O (300 mL) e então concentrada. O resíduo obtido foi concentrado e coevaporado com tolueno três vezes para fornecer um xarope. Este material foi dissolvido em H₂O (100 mL), resfriado a 0 °C, e então NaBH₄ (1,90 g, 50,0 mmol) foi adicionado numa única porção. A mistura resultante foi agitada a temperatura ambiente por 1 h, diluída com AcOH (~ 4,0 mL, pH ~ 4,0), agitado por mais 10 minutos e concentrado para fornecer um xarope. Este material foi suspenso em MeOH (30 mL) e acetona (100 mL) e então filtrado através de um funil de placa porosa. O filtrado foi concentrado para fornecer um resíduo que em seguida foi diluído em H₂O (30 mL) e tratado com Dowex 1 × 8 OH⁻ (64,8 g). A mistura resultante foi agitada por 10 minutos e filtrada através de um funil de placa porosa. O filtrado foi tratado com Amberlite IR120 H⁺ (64,8 g), agitado por 10 minutos e filtrado em funil de placa porosa. O filtrado foi concentrado para fornecer um material bruto (3,36 g) contendo principalmente o alditol **114**. Os espectros de RMN ¹H e ¹³C (D₂O) foram semelhantes aos reportados na literatura (KURSZEWSKA *et al.*, 2002).

1,2,4,5-Tetra-O-acetil-3,6-anidro-L-galactitol (115). O tratamento do material bruto (185 mg) contendo o composto **114** conforme descrito na preparação de **101** forneceu após cromatografia em coluna de sílica gel (20:1 CH₂Cl₂-acetona) o composto **115** (261 mg, 60% a partir da Agarose **3**). [α]_D = 28,0 (c 1,7, CHCl₃); R_f = 0,28 (20:1 CH₂Cl₂-acetona). RMN ¹H (CDCl₃): δ = 5,38 (ddd, 1 H, $J_{1a,2}$ = 4,0, $J_{1b,2}$ = 7,0, $J_{2,3}$ = 5,0 Hz, H-2), 5,16 (ddd, 1 H, $J_{5,6a}$ = 4,5, $J_{5,6b}$ = 3,5 Hz, H-5), 5,11 (dd, 1 H, $J_{3,4}$ = 3,0 Hz, H-4), 4,37 (dd, 1 H, $J_{1a,1b}$ = 12,0 Hz, H-1a), 4,18 (dd, 1 H, H-1b), 4,06 (dd, 1 H, $J_{6a,6b}$ = 11,0 Hz, H-6a), 4,00-3,94 (m, 2 H, H-6b, H-3), 2,15, 2,13, 2,11, 2,08 (4 s, 12 H, COCH₃). RMN ¹³C (CDCl₃): δ = 170,8; 170,4; 170,0; 82,3; 78,2; 78,1; 72,3;

70,0; 63,0; 21,2; 20,9. MALDI-TOF MS: 355,1 ($M^+ + Na$). Anal. Calcd para $C_{14}H_{20}O_9$ (332,11): C, 50,60; H, 6,07. Encontrado: C, 50,64; H, 6,10.

1,2-O-Isopropilideno-3,6-anidro-L-galactitol (116). Uma mistura do material bruto (2,0 g) contendo o composto **114** (~ 1,39 g, 8,50 mmol), acetona (200 mL) e H_2SO_4 98% (4,0 mL) foi agitada a temperatura ambiente por 24 h, diluída com H_2O (100 mL), resfriada a 0 °C, neutralizada com Na_2CO_3 e então concentrada. O resíduo resultante foi suspenso em acetona (100 mL) e filtrado através de um funil de placa porosa. O filtrado foi concentrado e eluído em uma coluna de sílica gel com 20:1 CH_2Cl_2 -acetona para fornecer **116** (1,13 g, 39% a partir da Agarose **3**) como um xarope incolor. $[\alpha]_D = -27,7$ (c 2,4, $CHCl_3$), $R_f = 0,20$ (20:1 CH_2Cl_2 -acetone). RMN 1H ($CDCl_3$): $\delta = 4,28$ (ddd, 1 H, $J_{1a,2} = 7,5$, $J_{1b,2} = 6,5$, $J_{2,3} = 2,5$ Hz, H-2), 4,14 (dd, 1 H, H-4), 4,07 (dd, 1 H, $J_{1a,1b} = 8,5$ Hz, H1b), 4,03 (dd, 1 H, $J_{5,6a} = 3,5$, $J_{6a,6b} = 9,0$ Hz, H-6a), 4,00 (m, 1 H, H-5), 3,98 (dd, 1 H, H-1a), 3,88 (dd, 1 H, H-6b), 3,79 (dd, 1 H, H-3), 1,40, 1,35 (2 s, 6 H, CMe_2). RMN ^{13}C ($CDCl_3$): $\delta = 109,6$; 84,3; 79,1; 77,1; 76,2; 74,0; 65,7; 25,6; 25,3. MALDI-TOF MS: 243,1 ($M^+ + K$). Anal. Calcd para $C_9H_{16}O_5$ (204,10): C, 52,93; H, 7,90. Encontrada: C, 52,95; H, 7,93.

1,2-O-Isopropilideno-4,5-di-O-benzil-3,6-anidro-L-galactitol (117). O tratamento de **116** (742 mg, 3,63 mmol) conforme descrito para a preparação de **102** forneceu após cromatografia em coluna de sílica gel (5:1 ciclohexano-AcOEt) **117** (1,40 g, 99%) como um xarope incolor. $[\alpha]_D = -10,0$ (c 0,4, $CHCl_3$); $R_f = 0,16$ (5:1 ciclohexano-AcOEt). RMN 1H ($CDCl_3$): $\delta = 7,40$ -7,20 (m, 10 H, Ph), 4,56 (d, 2H, $J = 12$ Hz, $PhCH_2$), 4,49, 4,47 (2 d, 2 H, $J = 12$ Hz, $PhCH_2$), 4,24 (ddd, 1 H, $J_{1b,2} = 6,5$, $J_{1a,2} = 7,0$ Hz, H-2), 4,10-4,05 (m, 2 H, H-5, H-6b), 3,91-3,76 (m, 5 H, H-6a, H-1b, H-3, H-4, H1a), 1,43, 1,35 (2 s, 6 H CMe_2). RMN ^{13}C ($CDCl_3$): $\delta = 137,4$; 137,2; 128,3; 127,8; 127,7; 127,6; 109,4; 84,5; 84,2; 82,8; 75,9; 71,7; 71,2; 71,1; 65,3; 26,4; 25,0.

4,5-Di-O-benzil-3,6-anidro-L-galactitol (118). Rota A (Esquema 25). Uma mistura do composto **117** (1,0 g, 2,60 mmol), AcOH (16 mL) e H_2O (4 mL) foi agitada a 100

°C por 1 h, resfriada a temperatura ambiente, concentrada e coevaporada com tolueno três vezes. O resíduo obtido foi eluído numa coluna de sílica gel com 1:2 ciclohexano-AcOEt para fornecer **118** (626 mg, 70%) como um xarope incolor. $[\alpha]_D = -22,6$ (c 1,0, CHCl₃); $R_f = 0,28$ (1:2 ciclohexano-AcOEt). RMN ¹H (CDCl₃): $\delta = 7,40$ -7,30 (m, 10 H, Ph), 4,57 (d, 1 H, PhCH₂), 4,54 (d, 3 H, PhCH₂), 4,15 (m, 1 H, H-4), 4,09-4,04 (m, 2 H, H-5, H-6b), 3,95 (dd, 1 H, $J_{2,3} = 4,0$, $J_{3,4} = 3,5$ Hz, H-3), 3,89 (dd, 1 H, $J_{5,6a} = 4,0$, $J_{6a,6b} = 10,5$ Hz, H-6a), 3,77 (m, 1 H, $J_{1a,2} = 4,5$, $J_{1b,2} = 5,0$ Hz, H-2), 3,68 (dd, 1 H, $J_{1a,1b} = 11,0$ Hz, H-1b), 3,64 (dd, 1 H, H-1a). RMN ¹³C (CDCl₃): $\delta = 137,6$; 137,4; 128,8; 128,4; 128,2; 128,0; 85,2; 84,4; 82,6; 72,3; 72,0; 71,5; 64,6. MALDI-TOF MS: 383,1 (M⁺ + K). Anal. Calcd para C₂₀H₂₄O₅ (344,16): C, 69,75; H, 7,02. Encontrado: C, 69,73; H, 7,01.

Rota B (Esquema 26). Sódio metálico (61 mg, 2,65 mmol) foi adicionado cuidadosamente em MeOH (5 mL). A mistura resultante foi agitada a temperatura ambiente sob fluxo de nitrogênio até completa decomposição do sódio metálico. Em seguida, uma solução contendo o composto **120** (570 mg, 1,33 mmol) em MeOH (15 mL) foi lentamente adicionada. A mistura resultante foi agitada a temperatura ambiente por 30 minutos, neutralizada com Amberlite IR120 (forma H⁺, 5,0 g) e filtrada com funil de placa porosa. O filtrado foi concentrado e eluído em uma coluna de sílica gel com 1:2 ciclohexano-AcOEt para fornecer **118** (380 mg, 83%).

4,5-Di-O-benzil-3,6-anidro-D-galactitol (ent-118). Sódio metálico (61 mg, 2,65 mmol) foi adicionado cuidadosamente em MeOH (5 mL). A mistura resultante foi agitada a temperatura ambiente sob fluxo de nitrogênio até completa decomposição do sódio metálico. Em seguida, uma solução contendo o composto **ent-120** (570 mg, 1,33 mmol) em MeOH (15 mL) foi lentamente adicionada. A mistura resultante foi agitada a temperatura ambiente por 30 minutos, neutralizada com Amberlite IR120 (forma H⁺, 5,0 g) e filtrada com funil de placa porosa. O filtrado foi concentrado e eluído em uma coluna de sílica gel com 1:2 ciclohexano-AcOEt para fornecer **ent-118** (380 mg, 83%). $[\alpha]_D = 22,4$ (c 1,2, CHCl₃). MALDI-TOF MS: 367,5 (M⁺ + Na). Anal. Calcd para C₂₀H₂₄O₅ (344,16): C, 69,75; H, 7,02. Encontrado: C, 69,72; H, 7,04.

3,4-Di-O-benzil-2,5-anidro-aldeído-L-lixose (97) e 3,4-Di-O-benzil-2,5-anidro-aldeído-D-lixose (ent-97). O tratamento de **118** ou **ent-118** (623 mg, 1,81 mmol) conforme descrito na preparação de **95** forneceu **97** ou **ent-97** (492mg, 87%) como um xarope incolor num grau de pureza aproximado de 95% conforme indicaram as análises de RMN de ^1H . Dados para **97**: $[\alpha]_D = 19,6$ (c 1,8, CHCl_3); $R_f = 0,20$ (3,3:1 ciclohexano-AcOEt). RMN ^1H (CDCl_3): $\delta = 9,63$ (d, 1 H, $J_{1,2} = 1,0$ Hz, H-1), 7,40-7,20 (m, 10 H, Ph), 4,66, 4,54, 4,44 (d, 3 H, $J = 12,0$ Hz, PhCH_2), 4,40 (s, 1 H, PhCH_2), 4,37 (s, 1 H, H-2), 4,22 (s, 1 H, H-3), 4,16 (dd, 1 H, $J_{4,5b} = 1,0$, $J_{5a,5b} = 10,0$ Hz, H-5b), 4,12 (dd, 1 H, $J_{4,5a} = 3,0$ Hz, H-5a), 4,04 (ddd, 1 H, H-4). RMN ^{13}C (CDCl_3): $\delta = 203,0$; 137,1; 137,0; 128,6; 128,5; 128,1; 128,0; 127,7; 87,0; 84,6; 80,5; 72,7; 71,8; 70,9. MALDI-TOF MS: 351,1 ($\text{M}^+ + \text{K}$). Anal. Calcd para $\text{C}_{19}\text{H}_{20}\text{O}_4$ (312,14): C, 73,06; H, 6,45. Encontrado: C, 73,09; H, 6,46. **ent-97**: $[\alpha]_D = -19,3$ (c 1,5, CHCl_3). MALDI-TOF MS: 351,8 ($\text{M}^+ + \text{K}$). Anal. Calcd para $\text{C}_{19}\text{H}_{20}\text{O}_4$ (312,14): C, 73,06; H, 6,45. Encontrado: C, 73,11; H, 6,48.

2,4,5-Tri-O-benzil-3,6-anidro-L-galactitol (119) e 2,4,5-tri-O-benzil-3,6-anidro-D-galactitol (ent-119). Em uma solução a 0°C contendo o aldeído **96** ou **ent-96** (886 mg, 2,05 mmol) em MeOH (10 mL), NaBH_4 (156 mg, 2,40 mmol) foi adicionado em uma porção. A mistura resultante foi agitada a temperatura ambiente por 1 h, diluída com AcOH (1 mL), agitada por mais 10 minutos, concentrada e então eluída em uma coluna de sílica gel com 1,6:1 ciclohexano-AcOEt para fornecer **119** ou **ent-119** (837 mg, 94%) como um xarope incolor. Dados de **119**: $[\alpha]_D = 8,5$ (c 1,4, CHCl_3); $R_f = 0,34$ (8:5 ciclohexano-AcOEt). RMN ^1H (CDCl_3): $\delta = 7,40$ -7,25 (m, 15 H, Ph), 4,71, 4,68, 4,54, 4,53, 4,51, 4,50 (6 d, 6 H, $J = 12,0$ Hz, PhCH_2), 4,16 (dd, 1 H, $J_{3,4} = 4,5$ Hz, H-4), 4,09 (dd, 1 H, H-6b), 4,07 (m, 1 H, H-5), 4,03 (t, 1 H, H-3), 3,88 (dd, 1 H, $J_{5,6a} = 4,5$, $J_{6a,6b} = 10,5$ Hz, H-6a), 3,76 (dd, 1 H, $J_{1a,2} = 6,0$, $J_{1a,1b} = 12,5$ Hz, H-1a), 3,72-3,67 (m, 2 H, H-2, H-1b). RMN ^{13}C (CDCl_3): $\delta = 138,2$; 137,5; 137,4; 128,5; 128,4; 128,3; 128,0; 127,9; 127,8; 84,8; 83,8; 83,0; 78,1; 72,6; 71,9; 71,4; 71,3; 61,8. MALDI-TOF MS: 457,2 ($\text{M}^+ + \text{Na}$). Anal. Calcd para $\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_5$ (434,21): C, 74,63; H, 6,96. Encontrado: C, 74,66; H, 6,98. **ent-119**: $[\alpha]_D = -8,3$ (c 2,4, CHCl_3). MALDI-TOF MS: 457,5 ($\text{M}^+ + \text{Na}$). Anal. Calcd para $\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_5$ (434,21): C, 74,63; H, 6,96. Encontrado: C, 74,61; H, 6,94.

1,2-Di-O-acetil-4,5-di-O-benzil-3,6-anidro-L-galactitol (120) and 1,2-Di-O-acetil-4,5-di-O-benzil-3,6-anidro-D-galactitol (ent-120). Uma mistura contendo **119** ou **ent-119** (800 mg, 1,80 mmol) em Ac₂O-TFA 20:1 (42 mL) foi aquecida a 70 °C por 8 h, resfriada a temperatura ambiente e então, coevaporada com tolueno três vezes. O xarope castanho resultante foi eluído em uma coluna de sílica gel com 3:1 ciclohexano-AcOEt para fornecer **120** ou **ent-120** (570 mg, 72%) levemente contaminado por subprodutos não caracterizados. RMN ¹H (CDCl₃): δ = 7,40-7,20 (m, 10 H, Ph), 5,33 (ddd, 1 H, $J_{1a,2}$ = 7,0, $J_{1b,2}$ = 4,0 Hz, H-2), 4,54, 4,52, 4,51, 4,45 (4 d, 4 H, J = 12,0 Hz, PhCH₂), 4,32 (dd, 1 H, $J_{1a,1b}$ = 12,0 Hz, H-1b), 4,15 (dd, 1 H, H-1a), 4,09-4,01 (m, 2 H, H-5, H-6b), 3,98-3,93 (m 2 H, H-3, H-4), 3,90 (dd, 1 H, $J_{5,6a}$ = 4,5, $J_{6a,6b}$ = 10,5 Hz, H-6a), 2,06, 2,05 (2 s, 6 H, OCCH₃). ¹³C NMR (CDCl₃): δ = 170,5; 170,4; 137,5; 137,3; 128,4; 128,0; 127,9; 127,8; 84,4; 82,7; 82,2; 72,1; 71,6; 71,4; 70,5; 63,0; 20,9; 20,7. MALDI-TOF MS: 467,5 (M⁺ + K).

Formil 2,3-Di-O-benzil- β -L-treose (121). Numa solução a 0 °C contendo o aldeído **97** (210 mg, 0,67 mmol), CH₂Cl₂ (5 mL) e NaHCO₃ (146 mg, 1,74 mmol) ácido metacloroperbenzóico (324 mg, 1,88 mmol) foi adicionado em uma única porção. A mistura resultante foi agitada a 0 °C por 30 minutos, diluída com CH₂Cl₂ (40 mL) e então lavada com uma solução saturada de NaCl (15 mL) e saturada de NaHCO₃ (3 \times 15 mL). A fase orgânica foi secada com Na₂SO₄, concentrada e eluída em uma coluna de sílica gel com 6,7:1 ciclohexano-AcOEt para fornecer **121** (130 mg, 63%) como um xarope incolor. $[\alpha]_D$ = -12,9 (c 0,9, CHCl₃); R_f = 0,43 (6,7:1 ciclohexano-AcOEt). RMN ¹H (CDCl₃): δ = 8,10 (s, 1 H, CHO), 7,41-7,29 (m, 10 H, Ph), 6,32 (s, 1 H, H-1), 4,69, 4,59, 4,53, 4,51 (4 d, 4 H, J = 12,0 Hz, PhCH₂), 4,34 (dd, 1 H, $J_{3,4a}$ = 5,5, $J_{4a,4b}$ = 9,5 Hz, H-4a), 4,17 (ddd, 1 H, H-3), 4,15 (s, 1 H, H-2), 4,05 (dd, 1 H, $J_{3,4b}$ = 4,5 Hz, H-4b). RMN ¹³C (CDCl₃): δ = 159,9; 137,2; 137,0; 128,5; 128,1; 128,0; 127,9; 127,8; 100,4; 86,0; 81,7; 73,2; 72,1. MALDI-TOF MS: 351,1 (M⁺ + Na). Anal. Calcd para C₁₉H₂₀O₅ (328,13): C, 69,50; H, 6,14. Encontrada: C, 69,52; H, 6,17.

2,3-Di-O-benzil-L-treose (122). Uma mistura contendo **121** (138 mg, 0,42 mmol), MeOH (10 mL) e Et₃N (10 mL) foi agitada a temperatura ambiente por 30 minutos e

então foi concentrada para fornecer **122** (120 mg, 95%) num grau de pureza de aproximadamente 95% conforme indicou a análise de RMN de ^1H . O espectro de RMN de ^1H foi consistente com o reportado na literatura (KUTTERER *et al.*, 1999).

(1'R)-4-(1',3',4'-tri-O-benzil-2,5-anidro-L-lixose)-1,4-dihidro-2,6-dimetilpiridina-3,5-dicarboxilato de dimetila (125) e **(1'S)-4-(1',3',4'-tri-O-benzil-2,5-anidro-D-lixose)-1,4-dihidro-2,6-dimetilpiridina-3,5-dicarboxilato de dimetila (ent-125)**. Em um *vial* contendo o aldeído **96** ou **ent-96** (60 mg, 0,14 mmol) foi adicionado metil-acetoacetato **123** (22 μL , 0,21 mmol), metil-3-amino-crotonato **124** (25 mg, 0,21 mmol), L-prolina **43** (2 mg, 0,014 mmol) e MeOH anidro (0,7 mL). A mistura foi agitada vigorosamente, degaseificada em vácuo e saturada com argônio (3 \times). O *vial* foi envolvido em papel alumínio e a mistura foi agitada a 50 $^\circ\text{C}$ por 48 h, resfriada a temperatura ambiente e então evaporada. O resíduo obtido foi eluído em coluna de cromatografia em sílica com 2:1 ciclohexano-AcOEt para fornecer **125** (48 mg, 55%) ou **ent-125** (45 mg, 52%) como um xarope. Dados de **125**: $[\alpha]_{\text{D}} = -38,0$ (c 0,9, CHCl_3); $R_f = 0,16$ (2:1 ciclohexano-AcOEt). RMN ^1H (CDCl_3): $\delta = 7,40\text{--}7,20$ (m, 15 H, Ph), 5,60 (br, s, 1 H, NH), 4,50, 4,47 (2d, $J = 12,0$ Hz, 2 H, PhCH_2), 4,46 (s, 2 H, PhCH_2), 4,45 (d, $J = 12,0$ Hz, 1 H, PhCH_2), 4,43 (d, $J_{4,1'} = 4,5$ Hz, 1 H, H-4), 4,36 (d, $J = 12,0$ Hz, 1 H, PhCH_2), 4,03 (ddd, 1 H, H-4'), 4,00 (dd, $J_{2',3'} = 4,5$, $J_{3',4'} = 2,5$ Hz, 1 H, H-3'), 3,96 (dd, $J_{4',5b'} = 3,0$, $J_{5a',5b'} = 9,5$ Hz, 1 H, H-5b'), 3,83 (dd, $J_{4',5a'} = 5,0$ Hz, 1 H, H-5a'), 3,81 (t, $J = 4,5$ Hz, 1 H, H-2'), 3,62, 3,59 (2 s, 6 H, OCH_3), 3,36 (t, $J = 4,5$ Hz, 1 H, H-1'), 2,30, 2,20 (2 s, 6 H, CH_3). RMN ^{13}C (CDCl_3): $\delta = 168,3$; 146,1; 145,6; 141,1; 139,0; 138,1; 128,3; 128,2; 128,0; 127,7; 127,5; 127,2; 100,3; 99,3; 85,0; 83,3; 81,4; 74,2; 71,9; 71,4; 71,2; 51,0; 36,0; 19,6; 19,4. ESI MS: 629,0 ($\text{M} + \text{H}^+$); 651,0 ($\text{M} + \text{Na}^+$). **ent-125**: $[\alpha]_{\text{D}} = 37,5$ (c 2,2, CHCl_3); $R_f = 0,16$ (2:1 ciclohexano-AcOEt). ESI MS: 629,0 ($\text{M} + \text{H}^+$); 651,0 ($\text{M} + \text{Na}^+$).

(1'S)-4-(1',3',4'-tri-O-benzil-2,5-anidro-L-lixose)-1,4-dihidro-2,6-dimetilpiridina-3,5-dicarboxilato de dimetila (epi-125). Em um *vial* contendo uma barra magnética foram adicionados o aldeído **96** (60 mg, 0,14 mmol), metil-acetoacetato **123** (15 μL , 0,14 mmol), metil-3-amino-crotonato **124** (17 mg, 0,14 mmol), L-prolina **43** (2 mg,

0,014 mmol), CH₂Cl₂ anidro (0,7 mL) e peneira molecular (~ 250 mg). A mistura foi agitada vigorosamente, degaseificada em vácuo e saturada com argônio (3 ×). O vial foi envolvido em papel alumínio e a mistura foi agitada a 25 °C por 48 h, filtrada em *pad* de celite e concentrada. O resíduo obtido foi eluído em coluna de cromatografia em sílica com 2:1 ciclohexano-AcOEt para fornecer **epi-125** (8 mg, 10%) como um xarope num grau de pureza aproximado de 70% conforme indicou a análise de RMN de ¹H. R_f = 0,24 (2:1 ciclohexano-AcOEt). RMN ¹H (CDCl₃): δ = 7,40-7,20 (m, 15 H, Ph), 5,59 (br, s, 1 H, NH), 4,61, 4,60 (2d, J = 12,0 Hz, 2 H, PhCH₂), 4,54 (d, J_{1',4} = 5,0 Hz, 1 H, H-4), 4,51, 4,48 (2d, J = 12,0 Hz, 2 H, PhCH₂), 4,40 (s, 2 H, PhCH₂), 4,25 (dd, J_{2',3'} = 3,0 Hz, 1 H, H-3'), 4,04 (ddd, 1 H, H-4'), 3,94 (dd, J_{1',2'} = 5,5 Hz, 1 H, H-2'), 3,89 (dd, J_{4',5a'} = 5,0, J_{5a',5b'} = 10,0, 1 H, H-5a'), 3,87 (dd, J_{4',5b'} = 3,0 Hz, 1 H, H-5b'), 3,69, 3,52 (2 s, 6 H, OCH₃), 3,49 (dd, 1 H, H-1'), 2,29, 2,19 (2 s, 6 H, CH₃). ESI MS: 629,0 (M + H⁺); 651,0 (M + Na⁺).

4-(2',3'-di-O-benzil-α-L-treofuranosil)-1,4-dihidro-2,6-dimetilpiridina-3,5-dicarboxilato de dimetila (127) e 4-(2',3'-di-O-benzil-α-D-treofuranosil)-1,4-dihidro-2,6-dimetilpiridina-3,5-dicarboxilato de dimetila (ent-127). Em um *vial* contendo o aldeído **97** ou **ent-97** (44 mg, 0,14 mmol) foi adicionado metil-acetoacetato **123** (22 μL, 0,21 mmol), metil-3-amino-crotonato **124** (25 mg, 0,21 mmol), L-prolina **43** (2 mg, 0,014 mmol) e MeOH anidro (0,7 mL). A mistura foi agitada vigorosamente, degaseificada em vácuo e saturada com argônio (3 ×). O *vial* foi envolvido em papel alumínio e a mistura foi agitada a 50 °C por 48 h, resfriada a temperatura ambiente e então evaporada. O resíduo obtido foi eluído em coluna de cromatografia em sílica com 3:1 ciclohexano-AcOEt para fornecer **127** (48 mg, 67%) ou **ent-127** (49 mg, 68%) como um xarope. Dados de **127**: [α]_D = 5,6 (c 1,9, CHCl₃); R_f = 0,33 (3:1 ciclohexano-AcOEt). RMN ¹H (CDCl₃): δ = 7,40-7,20 (m, 10 H, Ph), 6,00 (br., s, 1 H, NH), 4,49, (d, J = 11,5 Hz, 1 H, PhCH₂), 4,45 (s, 1 H, PhCH₂), 4,44 (d, J = 11,5 Hz, 1 H, PhCH₂), 4,43 (d, J_{1'4} = 7,5 Hz, 1 H, H-4), 4,42 (d, J = 11,5 Hz, 1 H, PhCH₂), 4,06 (dd, J_{1',2'} = 3,5, J_{2',3'} = 2,0 Hz, 1 H, H-2'), 4,03 (ddd, 1 H, H-3'), 3,86, 3,85 (2 s, 2 H, H-4a', H-4b'), 3,69 (dd, 1 H, H-1'), 3,65, 3,60 (2 s, 6 H, OCH₃), 2,34, 2,30 (2 s, 6 H, CH₃). RMN ¹³C (CDCl₃): δ = 168.7, 168.3, 146.9, 145.6, 138.5, 138.4, 128.6, 128.5, 127.9, 127.8, 127.7, 100.6, 99.5, 86.6, 84.4, 84.1, 71.7, 71.2, 52.6,

51.2, 35.9, 19.9, 19.8. ESI MS: 508,9 ($M + H^+$); 530,8 ($M + Na^+$). **ent-27**: $[\alpha]_D = -5.4$ ($c = 0.8$, $CHCl_3$); $R_f = 0,33$ (3:1 ciclohexano-AcOEt). ESI MS: 508,9 ($M + H^+$); 530,8 ($M + Na^+$).

(1'R)-4-[2'',3'',4'',6''-tetra-O-benzil- β -D-galactopiranosil-(1 \rightarrow 3)-1',4'-di-O-benzil-2,5-anidro-L-lixose]-1,4-dihidro-2,6-dimetilpiridina-3,5-dicarboxilato de dimetila (128). Em um *vial* contendo o aldeído **95** (121 mg, 0,14 mmol) foi adicionado metil-acetoacetato **123** (22 μ L, 0,21 mmol), metil-3-amino-crotonato **124** (25 mg, 0,21 mmol), L-prolina **43** (2 mg, 0,014 mmol) e MeOH anidro (0,7 mL). A mistura foi agitada vigorosamente, degaseificada em vácuo e saturada com argônio (3 \times). O *vial* foi envolvido em papel alumínio e a mistura foi agitada a 50 °C por 48 h, resfriada a temperatura ambiente e então evaporada. O resíduo obtido foi eluído em coluna de cromatografia em sílica com 2,5:1 ciclohexano-AcOEt para fornecer **128** (55 mg, 37%) como um xarope. $[\alpha]_D = -11,7$ ($c = 1,2$, $CHCl_3$); $R_f = 0,15$ (2,5:1 ciclohexano-AcOEt). RMN 1H ($CDCl_3$): $\delta = 7,40$ - $7,15$ (m, 30 H, Ph), 6,00 (br, s, 1 H, NH), 4,98, 4,84, 4,79, 4,75, 4,74, 4,66, 4,58, 4,55 (8 d, $J = 12,0$ Hz, 8 H, $PhCH_2$), 4,49-4,42 (m, 4 H, 2 $PhCH_2$, H-4, H-3'), 4,40 (d, $J = 12,0$ Hz, 1 H, $PhCH_2$), 4,38 (d, $J_{1'',2''} = 7,5$ Hz, 1 H, H-1''), 4,37 (d, $J = 12,0$ Hz, 1 H, $PhCH_2$), 4,08 (ddd, 1 H, H-4'), 3,91 (dd, $J_{3'',4''} = 3,5$ Hz, 1 H, H-4''), 3,90 (dd, $J_{1',2'} = 4,5$, $J_{2',3'} = 4,0$ Hz, 1 H, H-2'), 3,89 (dd, $J_{4',5b'} = 3,5$, $J_{5a',5b'} = 9,5$ Hz, 1 H, H-5b'), 3,81 (dd, $J_{4',5a'} = 5,0$ Hz, 1 H, H-5a'), 3,76 (dd, $J_{2'',3''} = 9,5$ Hz, 1 H, H-2''), 3,59, 3,56 (2 s, 6 H, OCH_3), 3,58-3,52 (m, 3 H, H-5'', H-6a'', H-6b''), 3,49 (dd, 1 H, H-3''), 3,43 (dd, $J_{1',4} = 6,0$ Hz, 1 H, H-1'), 2,25, 2,17 (2 s, 6 H, CH_3). RMN ^{13}C ($CDCl_3$): $\delta = 168,6$; 168,4; 146,2; 145,0; 139,3; 138,6; 138,5; 138,4; 138,1; 137,5; 128,5; 128,4; 128,2; 128,0; 127,9; 127,8; 127,7; 127,6; 127,5; 127,5; 127,4; 127,3; 127,0; 102,0; 100,0; 99,4; 83,8; 83,2; 82,9; 82,2; 81,4; 79,1; 75,1; 74,7; 74,0; 73,7; 73,5; 73,3; 73,0; 71,0; 68,7; 51,0; 50,9; 35,8; 19,2; 19,0. ESI MS: 1061,5 ($M + H^+$); 1083,5 ($M + Na^+$).

(1'S)-4-[2'',3'',4'',6''-tetra-O-benzil- β -D-galactopiranosil-(1 \rightarrow 3)-1',4'-di-O-benzil-2,5-anidro-D-lixose]-1,4-dihidro-2,6-dimetilpiridina-3,5-dicarboxilato de dimetila (129). Em um *vial* contendo o aldeído **98** (121 mg, 0,14 mmol) foi adicionado metil-

acetoacetato **123** (22 μ L, 0,21 mmol), metil-3-amino-crotonato **124** (25 mg, 0,21 mmol), L-prolina **43** (2 mg, 0,014 mmol) e MeOH anidro (0,7 mL). A mistura foi agitada vigorosamente, degaseificada em vácuo e saturada com argônio (3 \times). O *vial* foi envolvido em papel alumínio e a mistura foi agitada a 50 °C por 48 h, resfriada a temperatura ambiente e então evaporada. O resíduo obtido foi eluído em coluna de cromatografia em sílica com 2,5:1 ciclohexano-AcOEt para fornecer **129** (53 mg, 37%) como um xarope. $[\alpha]_D = 8,8$ (c 1,2, CHCl₃); $R_f = 0,15$ (2,5:1 ciclohexano-AcOEt). RMN ¹H (CDCl₃): 7,50-7,10 (m, 30 H, Ph), 5,38 (br, s, 1 H, NH), 4,91, 4,83, 4,69, (3 d, $J = 11,5$ Hz, 3 H, PhCH₂), 4,67 (s, 2 H, PhCH₂), 4,60, 4,56, 4,52, 4,50, (4 d, $J = 11,5$ Hz, 4 H, PhCH₂), 4,47 (d, $J_{1',4} = 6,0$ Hz, 1H, H-4), 4,41 (d, $J = 11,5$ Hz, 1 H, PhCH₂), 4,32 (s, 2 H, PhCH₂), 4,28 (d, $J_{1'',2''} = 7,5$ Hz, 1 H, H-1''), 4,25 (ddd, 1 H, H-4') 4,20 (dd, $J_{2',3'} = 5,0$, $J_{3',4'} = 1,5$ Hz, 1 H, H-3'), 3,95 (dd, $J_{4',5b'} = 2,5$, $J_{5a',5b'} = 9,5$ Hz, 1 H, H-5b'), 3,86 (dd, $J_{3'',4''} = 3,0$ Hz, 1 H, H-4''), 3,81 (dd, $J_{4',5a'} = 5,0$ Hz, 1 H, H-5a'), 3,80 (dd, $J_{1',2'} = 3,5$ Hz, 1 H, H-2'), 3,73 (dd, $J_{2'',3''} = 10,0$ Hz, 1 H, H-2''), 3,55, 3,52 (2 s, 6 H, OCH₃), 3,50 (dd, $J_{5'',6a''} = 6,5$, $J_{6a'',6b''} = 12,0$ Hz, 1 H, H-6a''), 3,46-3,39 (m, 3 H, H-5'', H-6b'', H-3''), 3,36 (dd, 1 H, H-1'), 2,18, 2,07 (2 s, 6 H, CH₃). RMN ¹³C (CDCl₃): $\delta = 168,5$; 168,4; 145,8; 145,0; 139,2; 139,1; 138,7; 138,5; 137,7; 128,5; 128,4; 128,3; 128,1; 128,0; 127,9; 127,8; 127,6; 127,4; 127,3; 127,2; 103,9; 100,3; 100,1; 86,0; 84,4; 83,1; 81,9; 80,7; 79,2; 74,7; 74,6; 74,1; 73,5; 73,4; 73,2; 73,0; 72,1; 71,1; 68,7; 51,1; 36,0; 19,5; 19,1. ESI MS: 1061,5 (M + H⁺); 1083,5 (M + Na⁺).

(1'S)-4-[2'',3'',6''-tri-O-benzil-4''-O-sulfonato- β -D-galactopiranosil-(1 \rightarrow 3)-1',4'-di-O-benzil-2,5-anidro-D-lixose]-1,4-dihidro-2,6-dimetilpiridina-3,5-dicarboxilato de dimetila (130). Em um *vial* contendo o aldeído **99** (119 mg, 0,14 mmol) foi adicionado metil-acetoacetato **123** (22 μ L, 0,21 mmol), metil-3-amino-crotonato **124** (25 mg, 0,21 mmol), L-prolina **43** (2 mg, 0,014 mmol) e MeOH anidro (0,7 mL). A mistura foi agitada vigorosamente, degaseificada em vácuo e saturada com argônio (3 \times). O *vial* foi envolvido em papel alumínio e a mistura foi agitada a 50 °C por 48 h, resfriada a temperatura ambiente e então evaporada. O resíduo obtido foi eluído em coluna de cromatografia em sílica com 15:1 AcOEt-MeOH para fornecer **130** (41 mg, 28%) como um xarope. $[\alpha]_D = 22,7$ (c 0,7, Acetona). $R_f = 0,27$ (15:1 AcOEt-MeOH). RMN ¹H (Acetona-*d*₆): $\delta = 7,90$ (s, 1 H, NH), 7,60-7,10 (m, 25 H, Ph), 5,08, (d, $J =$

12,0 Hz, 1 H, PhCH_2), 5,00 (dd, $J_{3'',4''} = 3,1$, Hz, 1 H, H-4''), 4,80, 4,70, 4,60, 4,59, 4,58 (5 d, $J = 12,0$ Hz, 5 H, PhCH_2), 4,52 (d, $J_{1'',2''} = 7,5$, Hz, 1 H, H-1''), 4,51 (d, $J_{1',4} = 6,0$, Hz, 1 H, H-4), 4,50 (d, $J = 12,0$ Hz, 1 H, PhCH_2), 4,48 (s, 1 H, PhCH_2), 4,47, 4,46 (2 d, $J = 12,0$ Hz, 1 H, PhCH_2), 4,40 (dd, $J_{2',3'} = 4,5$, $J_{3',4'} = 1,7$ Hz, 1 H, H-3'), 4,30 (ddd, 1 H, H-4'), 4,00 (dd, $J_{5'',6a''} = 4,2$, $J_{6a'',6b''} = 10,0$ Hz, 1 H, H-6a''), 3,87 (dd, $J_{4',5b'} = 2,5$, $J_{5a',5b'} = 9,5$ Hz, 1 H, H-5b'), 3,86 (t, $J = 4,5$ Hz, 1 H, H-2'), 3,81-3,70 (m, 3 H, H-5a', H-6b'', H-5''), 3,63 (dd, $J_{2'',3''} = 9,5$ Hz, 1 H, H-3''), 3,54 (dd, 1 H, H-2''), 3,50, 3,48 (2 s, 6 H, OCH_3), 3,42 (dd, $J_{1',2'} = 4,0$ Hz, 1 H, H-1'), 2,30, 2,20 (2 s, 6 H, CH_3). RMN ^{13}C (Acetona- d_6): $\delta = 168,1; 146,4; 145,9; 139,3; 139,1; 139,0; 128,3; 128,1; 128,0; 127,9; 127,8; 127,7; 127,6; 127,5; 127,1; 127,0; 126,8; 103,2; 99,5; 99,1; 85,0; 84,4; 81,7; 79,8; 78,7; 74,3; 74,2; 73,6; 72,6; 71,8; 71,5; 70,9; 70,8; 70,4; 50,1; 50,0; 36,1; 17,9; 17,6$. ESI MS: 1049,4 (M - H).

(1'R)-4-(1',3',4'-tri-O-benzil-2,5-anidro-L-lixose)-2,6-dimetilpiridina-3,5-

dicarboxilato de dimetila (131). Em uma solução contendo o composto **125** (43 mg, 0,07 mmol), CH_2Cl_2 anidro (1 mL) a 0 °C foi adicionado 2,3-dicloro-5,6-diciano-1,4-benzoquinona (16 mg, 0,07 mmol). A mistura resultante foi agitada vigorosamente, degaseificada em vácuo e saturada com argônio (3 ×). A solução foi agitada a 0 °C por 1,5 h, filtrada em camada de celite e concentrada. O resíduo obtido foi eluído em coluna de cromatografia em sílica com 3:1 ciclohexano-AcOEt para fornecer **131** (11 mg, 25%) como um xarope. $[\alpha]_D = -114,4$ (c 0,4, CHCl_3); $R_f = 0,21$ (3:1 ciclohexano-AcOEt). RMN ^1H (CDCl_3): $\delta = 7,40\text{-}7,20$ (m, 13H, Ph), 7,03-6,98 (m, 2H, Ph), 4,78 (d, $J_{1,2}=7,5$ Hz, 1H, H-1), 4,56, 4,50 (2d, $J=12,0$ Hz, 2H, PhCH_2), 4,48 (dd, 1H, H-2), 4,45, 4,34 (2d, $J=12,0$ Hz, PhCH_2), 4,18 (s, 2H, PhCH_2), 4,01 (dd, $J_{4,5b}=2,0$ Hz, 1H, H-5b), 4,01-3,98 (m, 2H, H-3, H-4), 3,92 (dd, $J_{4,5a}=4,5$, $J_{5a,5b}=10,5$ Hz, 1H, H-5a), 3,62 (s, 6H, OCH_3), 2,48 (s, 6H, CH_3). RMN ^{13}C (CDCl_3): $\delta = 169,5; 169,0; 155,8; 142,6; 138,2; 138,0; 137,6; 128,6; 128,4; 128,2; 127,9; 127,8; 127,7; 127,5; 85,8; 83,6; 83,3; 78,8; 72,2; 71,5; 71,3; 71,2; 52,6; 23,0$. ESI MS: 627,0 (M + H^+); 649,0 (M + Na^+).

4-(2',3'-di-O-benzil- α -L-treofuranosil)-1,4-dihidro-2,6-dimetilpiridina-3-acetil-5-carboxilato de metila (134) e 4-(2',3'-di-O-benzil- α -D-treofuranosil)-1,4-dihidro-2,6-dimetilpiridina-3-acetil-5-carboxilato de metila (*ent*-134). Em um *vial* contendo o aldeído **97** ou *ent*-**97** (44 mg, 0,14 mmol) foram adicionados 2,4-pentanodiona **133** (22 μ L, 0,21 mmol), metil-3-amino-crotonato **124** (25 mg, 0,21 mmol), L-prolina **43** (2 mg, 0,014 mmol), MeOH anidro (0,7 mL) e peneira molecular (~ 250 mg). A mistura foi agitada vigorosamente, degaseificada em vácuo e saturada com argônio (3 \times). A mistura foi agitada a 25 °C por 5 dias, filtrada em *pad* de celite e concentrada. O resíduo obtido foi eluído em coluna de cromatografia em sílica com 1:1 ciclohexano-AcOEt para fornecer uma mistura de **134** ou *ent*-**134** juntamente com **127** ou *ent*-**127**. A mistura foi separada em CCD preparativa com 15:1 *i*-Pr₂O-MeCN para fornecer **134** (34 mg, 50%) ou *ent*-**134** (32 mg, 47%). Dados **134**: $[\alpha]_D = 31,3$ (c 0,5, CHCl₃); RMN ¹H (Benzeno-*d*₆): $\delta = 7,33$ -7,00 (m, 10 H, Ph), 4,73 (d, $J_{1',4} = 6,0$ Hz, 1 H, H-4), 4,54 (br., s, 1 H, NH), 4,45, 4,40, 4,18, 4,12 (4 d, $J = 11,7$ Hz, 1 H, PhCH₂), 4,06 (dd, $J_{1',2'} = 4,3$ Hz, 1 H, H-1'), 4,00 (dd, $J_{2',3'} = 1,5$ Hz, 1 H, H-2'), 3,88-3,84 (m, 2 H, H-3', H-4b'), 3,70 (dd, $J_{3',4a'} = 5,6$, $J_{4a',4b'} = 10,5$ Hz, 1 H, H-4a'), 3,45 (s, 3 H, OCH₃), 2,34 ((s, 3 H, COCH₃), 1,92, 1,84 (2 s, 6 H, CH₃). RMN ¹³C (Benzeno-*d*₆): $\delta = 198,3$; 167,6; 145,3; 142,0; 138,5; 138,4; 128,2; 127,9; 127,7; 127,4; 109,2; 99,8; 86,6; 85,1; 83,9; 71,7; 70,8; 70,3; 50,5; 37,3; 28,9; 19,0; 18,8. *ent*-**134**: $[\alpha]_D = -31,1$ (c 0,5, CHCl₃).

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 ANÁLISE DA AGAROSE E *KAPPA*-CARRAGENANA UTILIZADA NO TRABALHO

A *Kappa*-carragenana utilizada neste trabalho foi obtida através da extração aquosa da alga seca e moída *Kappaphycus alvarezii*. Após três extrações sucessivas à temperatura de 65 °C, os sobrenadantes obtidos após centrifugação foram agrupados e dialisados. Polissacarídeos (KWS) foram obtidos após liofilização, com um rendimento de 58% em relação a alga seca.

A análise da composição monossacarídica (Tabela 3) indicou galactose e 3,6-anidro-galactose como principais constituintes dos polissacarídeos presentes na fração KWS. Pequenas quantidades de 6-O-metil galactose foram detectadas. Este monossacarídeo frequentemente é encontrado em baixas percentagens nos extratos obtidos de algas marinhas produtoras de *Kappa*-carragenana (VILLANUEVA; MONTANO, 2003). A análise por RMN de ^{13}C e ^1H (Figura 12) forneceu espectros idênticos aos reportados na literatura para *Kappa*-carragenana (VAN de VELDE *et al.*, 2002). No espectro de ^{13}C foram observados 12 sinais, sendo apenas dois deles na região anomérica em 102,1 e 94,8 ppm correspondentes a C-1 das unidades de β -D-galactopiranosose 4-sulfato e 3,6-anidro- α -D-galactopiranosose. Estes dados indicaram que o extrato KWS é constituído na sua maior parte por *Kappa*-carragenana. A partir da análise de CG-EM (Tabela 3), foi estimado uma quantidade aproximada de 2,31 mmol de 3,6-anidro-D-galactose por grama de polissacarídeo.

Para a escolha da agarose, foram avaliadas três fontes comerciais: AG1 (Vetec), AG2 (Sigma-Aldrich) e AG3 (Invitrogen). As composições monossacarídicas de AG1 e AG2 foram semelhantes, apresentando galactose e 3,6-anidro-galactose como principais constituintes (Tabela 3). Traços de 2-O-metil-3,6-anidro-galactose e 6-O-metil-galactose também foram observados. Os sinais dos hidrogênios metílicos destas unidades foram observados em 3,51 e 3,42 ppm, respectivamente no

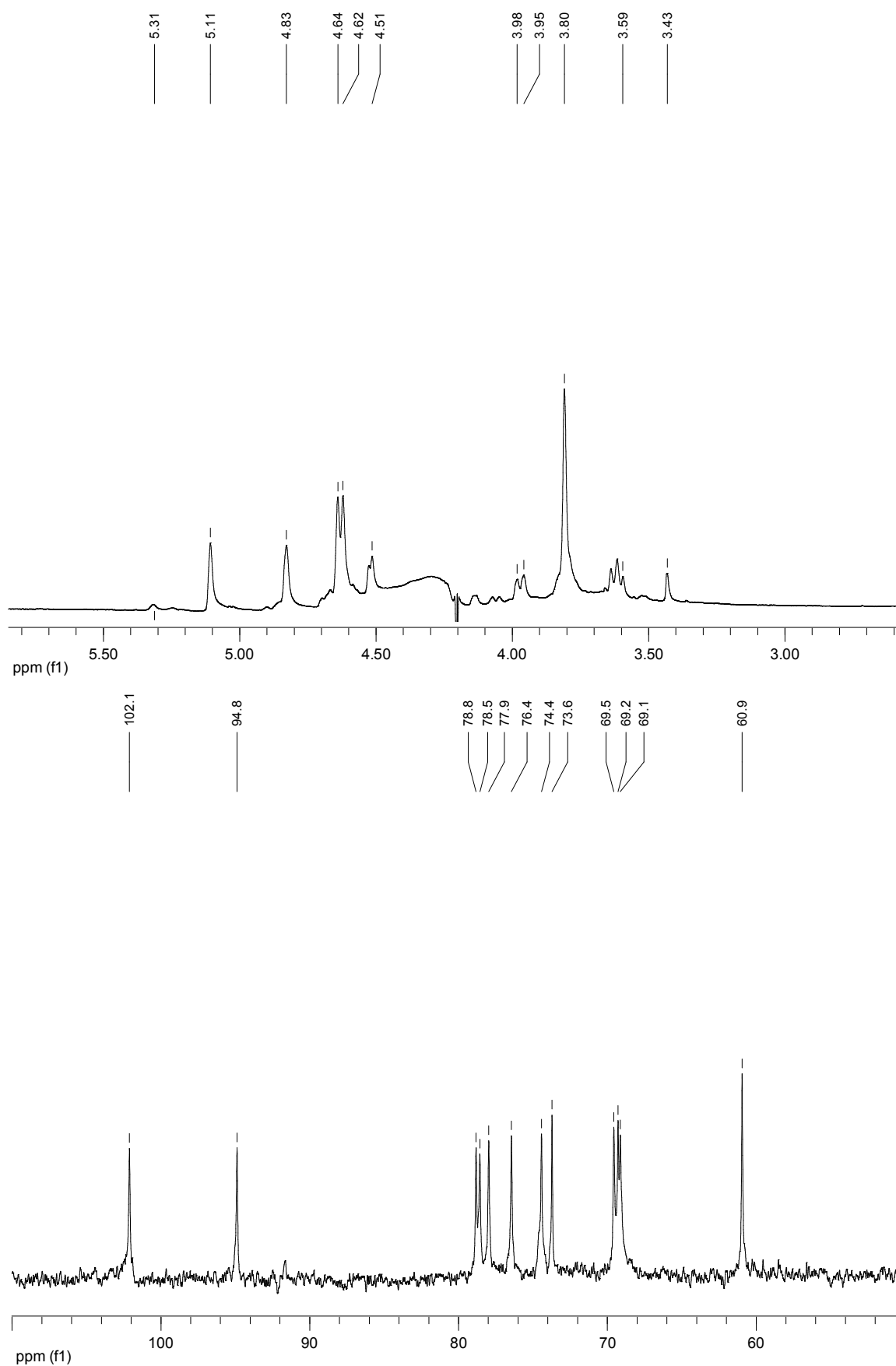
espectro de RMN de ^1H (Figura 13) (MAZUNDER *et al.*, 2002). A amostra AG3 é uma agarose de *low melting point* e apresentou uma menor quantidade de 3,6-anidro-galactose que AG1 e AG2, além de maiores quantidades de açúcares naturalmente metilados. O espectro de RMN de ^{13}C destas amostras mostrou um sinal em 97,8 ppm que foi assinalado como pertencente a C-1 das unidades de 3,6-anidro- α -L-galactopirranose. As análises por RMN e CG-EM indicaram que as amostras AG1 e AG2 são boas fontes de Agarose. Dessa forma, AG1 foi escolhida para utilização neste trabalho devido ao seu menor custo. Baseado nos resultados de CG-EM foi estimado uma quantidade aproximada de 2,38 mmol de 3,6-anidro-L-galactose por grama da agarose AG1.

TABELA 3 – COMPOSIÇÃO MONOSSACARÍDICA DE KWS E DAS FONTES COMERCIAIS DE AGAROSE

Amostras	Monossacarídeos (mol%) ^a				
	Gal	3,6-AnGal	2Me-AnGal	6Me-Gal	2Me-Gal
AG1 ^b	57.0	38.5	2.2	2.1	0.3
AG2 ^b	54.5	42.0	2.2	1.4	0
AG3 ^b	49.1	29.6	9.1	4.9	7.3
KWS ^b	44.2	50.4	0	4.7	0.7

^a Gal = galactose, 3,6-AnGal = 3,6-anidrogalactose, 2Me-Gal = 2-O-metil-3,6-anidro-galactose, 6Me-Gal = 6-O-metil-galactose, 2Me-Gal = 2-O-metil-galactose.

^b análises realizadas após hidrólise reductiva (STEVENSON; FURNEAUX, 1991)

FIGURA 12 – ESPECTROS DE RMN DE ^1H E ^{13}C DE KWS

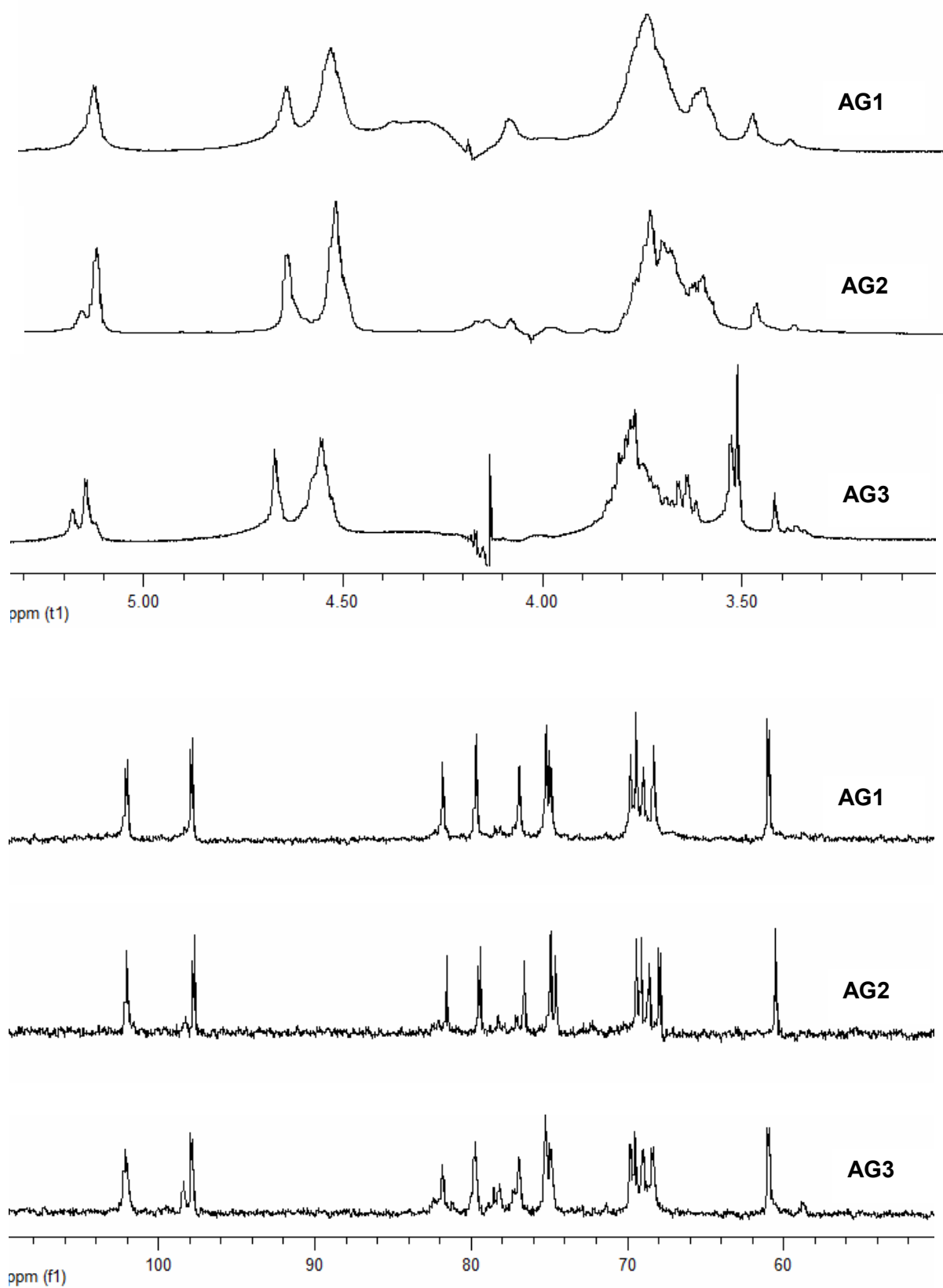
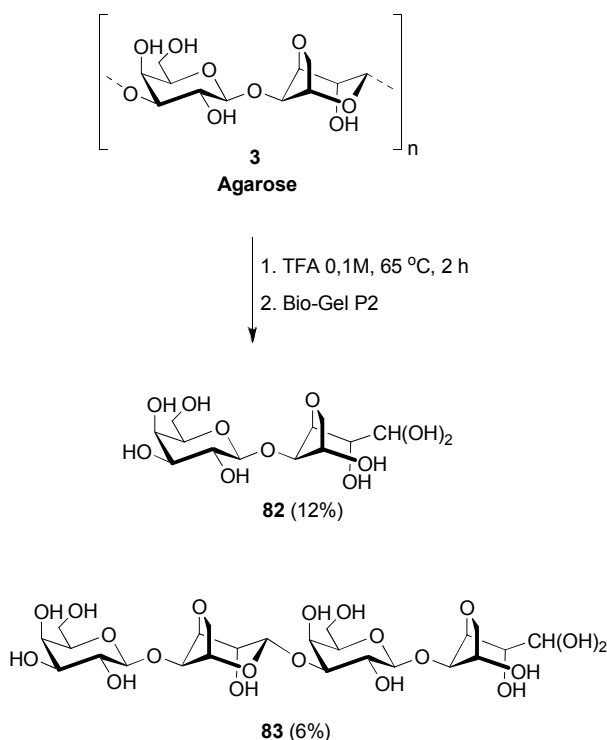


FIGURA 13 – ESPECTROS DE RMN DE ^1H E ^{13}C DAS FONTES DE AGAROSE COMERCIAIS

4.2 OBTENÇÃO DE AGAROBIOSE E AGAROTETRAOSE A PARTIR DA AGAROSE

A instabilidade das unidades de 3,6-anidro-galactose em condições ácidas é relatada desde os primeiros estudos estruturais de carragenanas e agaranas. Stevenson e Furneaux (1991) demonstraram que os resíduos anidro da galactose podem ser preservados em condições ácidas brandas e derivatizados para quantificação por CLG. A fonte de Agarose comercial AG1 foi submetida a hidrólise ácida parcial utilizando TFA 0,1 M a 65 °C por 2 horas (Esquema 14). O hidrolisado obtido foi submetido a purificação em cromatografia de filtração em gel com Bio-Gel P2 (Figura 14). A análise do perfil cromatográfico e de CCD permitiram o isolamento de duas frações principais, denominadas de AA (12%) e AB (6%).



ESQUEMA 14 – HIDRÓLISE ÁCIDA PARCIAL DA AGAROSE AG1

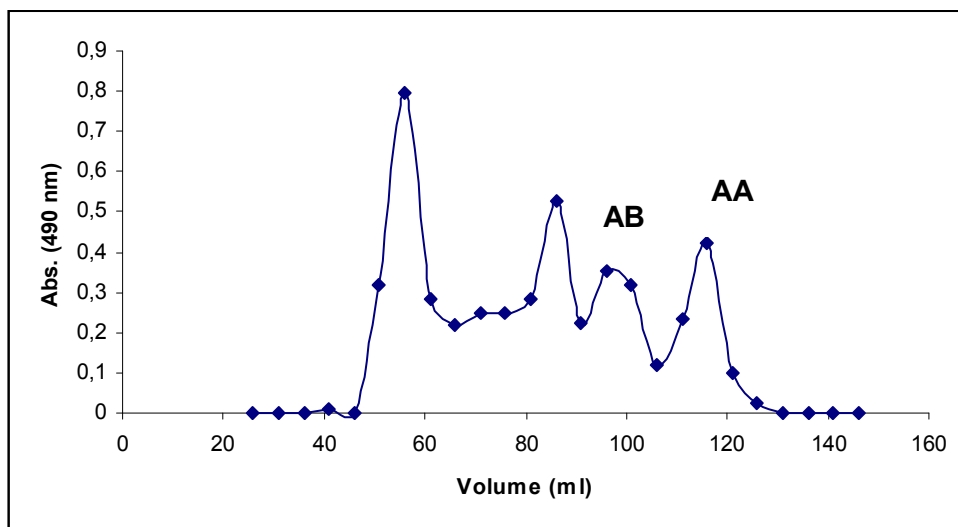


FIGURA 14 – CROMATOGRAMA DO HIDROLISADO DE AG1 EM BIO-GEL P2

O espectro de RMN de ^{13}C da fração AA (Figura 15) mostrou a presença de onze sinais bem definidos, característicos de um dissacarídeo. O sinal de C-1 correspondente a unidade de 3,6-anidro-galactose na forma de seu aldeído hidratado apareceu em 89,8 ppm. Os sinais foram idênticos aos publicados por Miller *et al.* (1982) para a agarobiose **82**. Espectro de RMN ^{13}C acoplado ao ^1H mostrou uma constante de acoplamento ($J_{\text{C1,H1}} = 163,7 \text{ Hz}$) característica de aldohexoses na forma de aldeído hidratado (ZHU; ZAJICEK; SERIANNI, 2002). A análise de espectrometria de massas confirmou a estrutura da agarobiose **82** na fração AA. Dois picos principais foram observados correspondentes a forma aldeídica $[\text{M} + \text{Na}]^+ m/z 347$ e aldeído hidratado $[\text{M} + \text{H}_2\text{O} + \text{Na}]^+ m/z 365$ (Figura 15). A análise do espectro de RMN de ^{13}C da fração AB indicou a presença de um tetrassacarídeo (Figura 15). O espectro foi semelhante ao publicado por Rochas *et al.* (1994) para a agarotetraose **83**. O sinal em 98,2 ppm corresponde a C-1 das unidades de 3,6-anidro- α -L-galactopirranose enquanto que o sinal em 102,1 corresponde as unidades de β -D-galactopirranose. A análise de espectrometria de massas confirmou a estrutura da agarotetraose **83** na fração AB. Dois picos principais foram observados correspondentes a forma aldeídica $[\text{M} + \text{Na}]^+ m/z 653$ e aldeído hidratado $[\text{M} + \text{H}_2\text{O} + \text{Na}]^+ m/z 671$ (Figura 15).

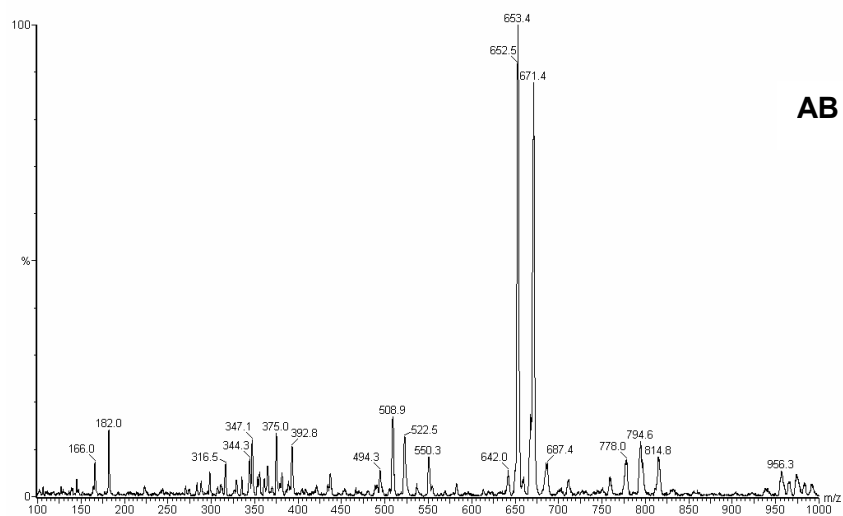
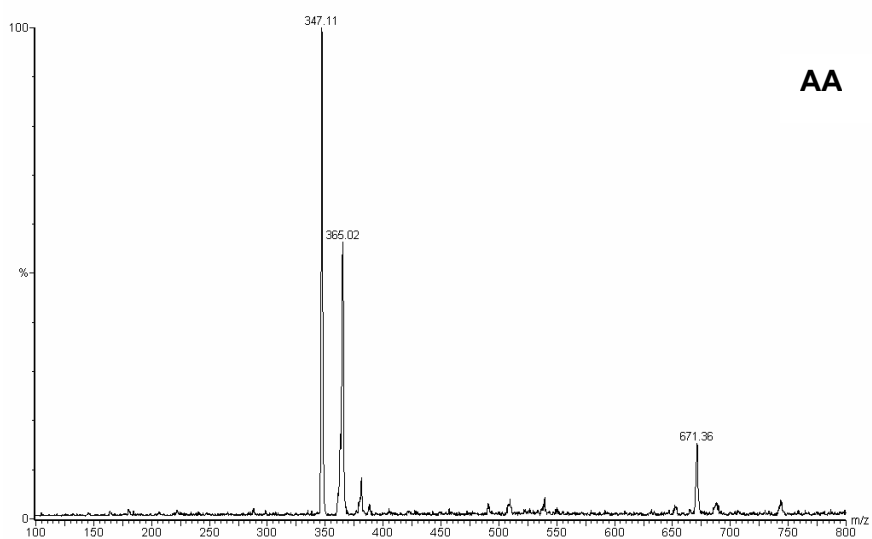
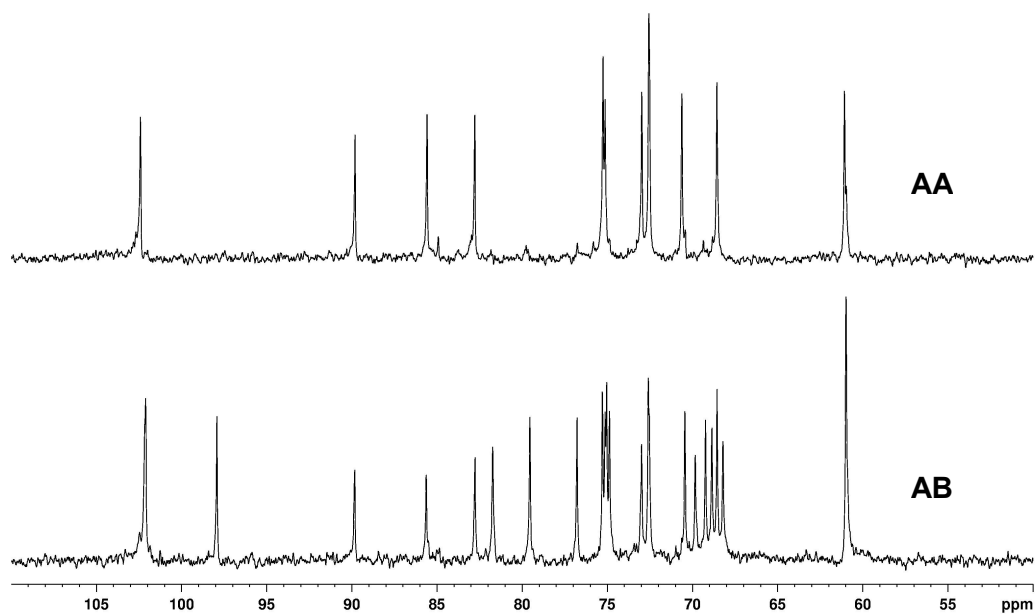


FIGURA 15 – ESPECTROS DE RMN ^{13}C E ESI MS DAS FRAÇÕES AA E AB

Na Tabela 4 são mostrados os assinalamentos completos da agarobiose **82** e agarotetraose **83**.

TABELA 4 – ASSINALAMENTO DE ^1H E ^{13}C DA AGAROBIOSE, AGAROTETROSE, KAPPA-CARRABIOSE E KAPPA-CARRATETROSE

Unidade		Agarobiose		Agarotetraose		κ-carrabiose		κ-carratetraose	
		82		83		84		85	
		^1H	^{13}C	^1H	^{13}C	^1H	^{13}C	^1H	^{13}C
β-D-Galp (ext.)	1	4,56	102,4	4,56	102,1	4,56	103,0	4,60	102,7
	2	3,53	70,5	3,50	70,5	3,57	70,7	3,51	70,6
	3	3,66	72,5	3,65	72,6	3,82	71,4	3,80	71,6
	4	3,93	68,4	3,94	68,6	4,67	76,3	4,68	76,4
	5	3,71	75,2	3,74	75,3	3,86	74,5	3,85	74,4
	6	3,78	60,9	3,77	61,0	3,82	60,9	3,80	60,8
	6'	3,78		3,77		3,82		3,80	
3,6-An.-α-Galp	1			5,16	98,2			5,10	94,2
	2			4,14	69,3			4,14	69,1
	3			4,56	79,6			4,52	78,7
	4			4,66	76,8			4,61	77,8
	5			4,57	74,9			4,65	76,2
	6			4,03	68,9			4,06	69,0
	6'			4,24				4,21	
β-D-Galp (int.)	1			4,61	102,2			4,59	102,2
	2			3,66	69,9			3,67	69,2
	3			3,82	81,8			4,00	77,6
	4			4,14	68,2			4,84	73,2
	5			3,74	75,1			3,85	74,4
	6			3,77	61,0			3,80	60,9
	6'			3,77				3,80	
3,6-An-Gal	1	5,02	89,9	5,01	89,8	5,01	89,8	5,00	89,8
	2	3,74	72,5	3,73	72,5	3,65	72,7	3,66	72,7
	3	4,08	82,8	4,07	82,8	4,09	82,3	4,09	82,4
	4	4,38	85,6	4,39	85,6	4,29	86,9	4,28	86,9
	5	4,41	75,1	4,41	75,2	4,49	75,3	4,49	75,4
	6	3,86	72,8	3,86	73,0	3,86	72,7	3,84	72,8
	6'	3,99		4,00		4,03		4,02	

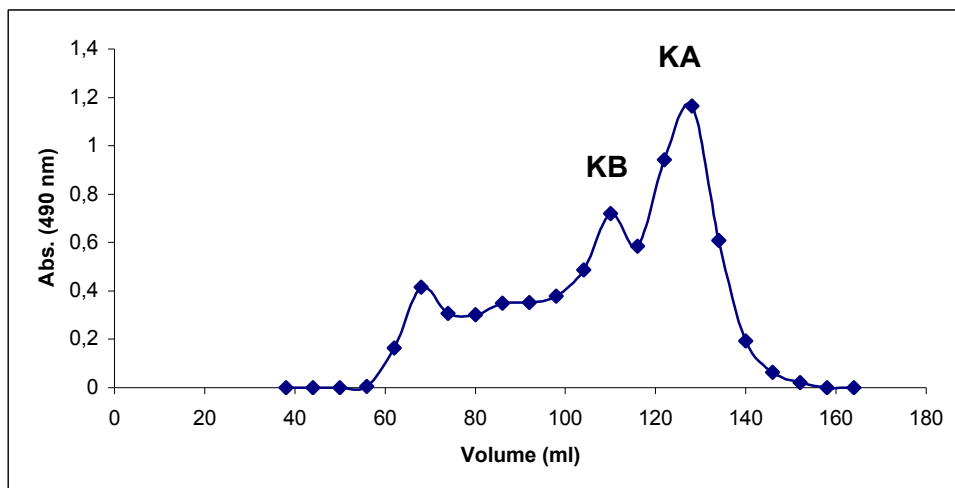


FIGURA 16 – CROMATOGRAMA DO HIDROLISADO DE *KAPPA*-CARRAGENANA EM SEPHADEX G25

A fração KA foi analisada por RMN de ^1H e ^{13}C . No espectro de ^1H foi observado um duplete em 5,01 ($J_{1,2} = 6,0$ Hz) correspondente ao H-1 da unidade de 3,6-anidro-galactose na forma de aldeído hidratado (USOV, 1984). O espectro de RMN de ^{13}C (Figura 17) foi semelhante ao publicado por Miller *et al.* (1982) para a *kappa*-carrabiose **84**. Os sinais em 103,0 e 76,6 ppm correspondem a C-1 e C-4 das unidades de β -D-galactose 4-sulfato. A análise de ESIMS em modo negativo mostrou dois picos principais. Em m/z 403 $[\text{M} - \text{H}]^-$ correspondente a forma aldeídica e m/z 421 $[\text{M} + \text{H}_2\text{O} - \text{H}]^-$ correspondente a forma de aldeído hidratado (Figura 17).

O espectro de RMN de ^{13}C da fração KB mostrou três sinais na região anomérica, correspondentes a C-1 da unidade terminal (102,7 ppm) e interna (102,2 ppm) de β -D-galactopiranosose 4-sulfato. Em 89,8 ppm foi observado o sinal correspondente a C-1 das unidades de 3,6-anidro-galactose na forma de aldeído hidratado (Figura 17). O assinalamento completo do tetrassacarídeo (Tabela 4) confirmou a sulfatação em ambas as unidades de β -D-galactopiranosose, confirmando a presença da *kappa*-carratetraose **85** na fração KB. A análise de ESIMS em modo negativo mostrou dois picos principais. Em m/z 394 $[\text{M} - \text{H}]^-$ correspondente a forma aldeídica e m/z 403 $[\text{M} + \text{H}_2\text{O} - \text{H}]^-$ a forma de aldeído hidratado (Figura 17).

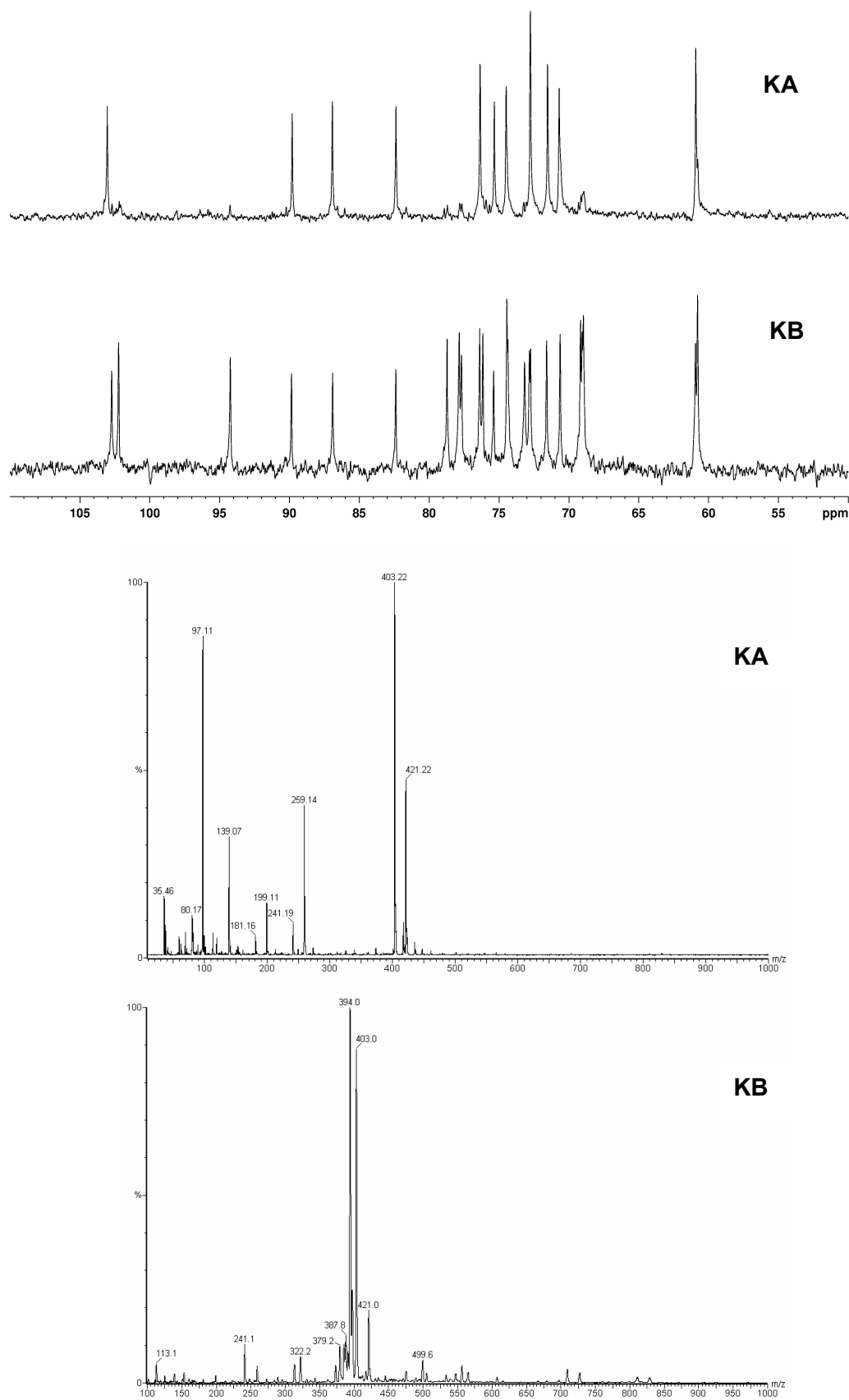


FIGURA 17 – ESPECTROS DE RMN ^{13}C E ESIMS DAS FRAÇÕES KA E KB

4.4 PRODUÇÃO DE AGAROBIOSE E AGAROTETRAOSE A PARTIR DA HIDRÓLISE ÁCIDA PARCIAL DA AGAROSE: MONITORAMENTO POR CLAE

Devido ao potencial que oligossacarídeos obtidos de galactanas apresentam nas áreas farmacêuticas e alimentícias, foi desenvolvida uma metodologia utilizando CLAE para avaliar a produção de agarobiose e agarotetrose. Buscando desenvolver um método prático e rápido foi escolhida a cromatografia de permeação em gel acoplada ao detector de índice de refração. Dessa forma, foi possível a utilização de fase móvel aquosa e evitado a derivatização dos oligossacarídeos com cromóforos.

No desenvolvimento do método foram utilizados um hidrolisado da agarose (TFA 0,1 M, 65 °C, 4 h), além da agarobiose (AA) e agarotetraose (AB). Utilizando estas amostras, foram testadas colunas ultra-hydrogel (Waters®) 120, 250 e 500 com diferentes eluentes. As colunas foram utilizadas individualmente ou acopladas em diferentes temperaturas (30-60 °C). Foram testados soluções de NaCl, azida e água ultra-purificada como fase móvel.

A melhor resolução foi encontrada trabalhando a um fluxo de 0,4 mL.min⁻¹ com água ultra-purificada e a coluna ultra-hydrogel 120. Na Figura 18 pode-se observar os cromatogramas das amostras agarobiose (AA), agarotetraose (AB) e o hidrolisado de AG1 de 4 horas na melhor condição de separação encontrada. Os cromatogramas da agarobiose e agarotetrose indicaram que estes oligossacarídeos foram isolados num bom grau de pureza. Assim, eles foram utilizados na construção de curvas de calibração.

Recentemente, Kazlowski *et al.* (2008) desenvolveram uma metodologia de separação de agaro- e neoagaro-oligossacarídeos por cromatografia de exclusão e afinidade. Utilizando a coluna Asahipak GS-320 HQ (exclusão) foi alcançada a separação de agaro-oligossacarídeos de até 22 unidades monossacarídicas. Entretanto, o cromatograma do hidrolisado permitiu a visualização de até octassacarídeos.

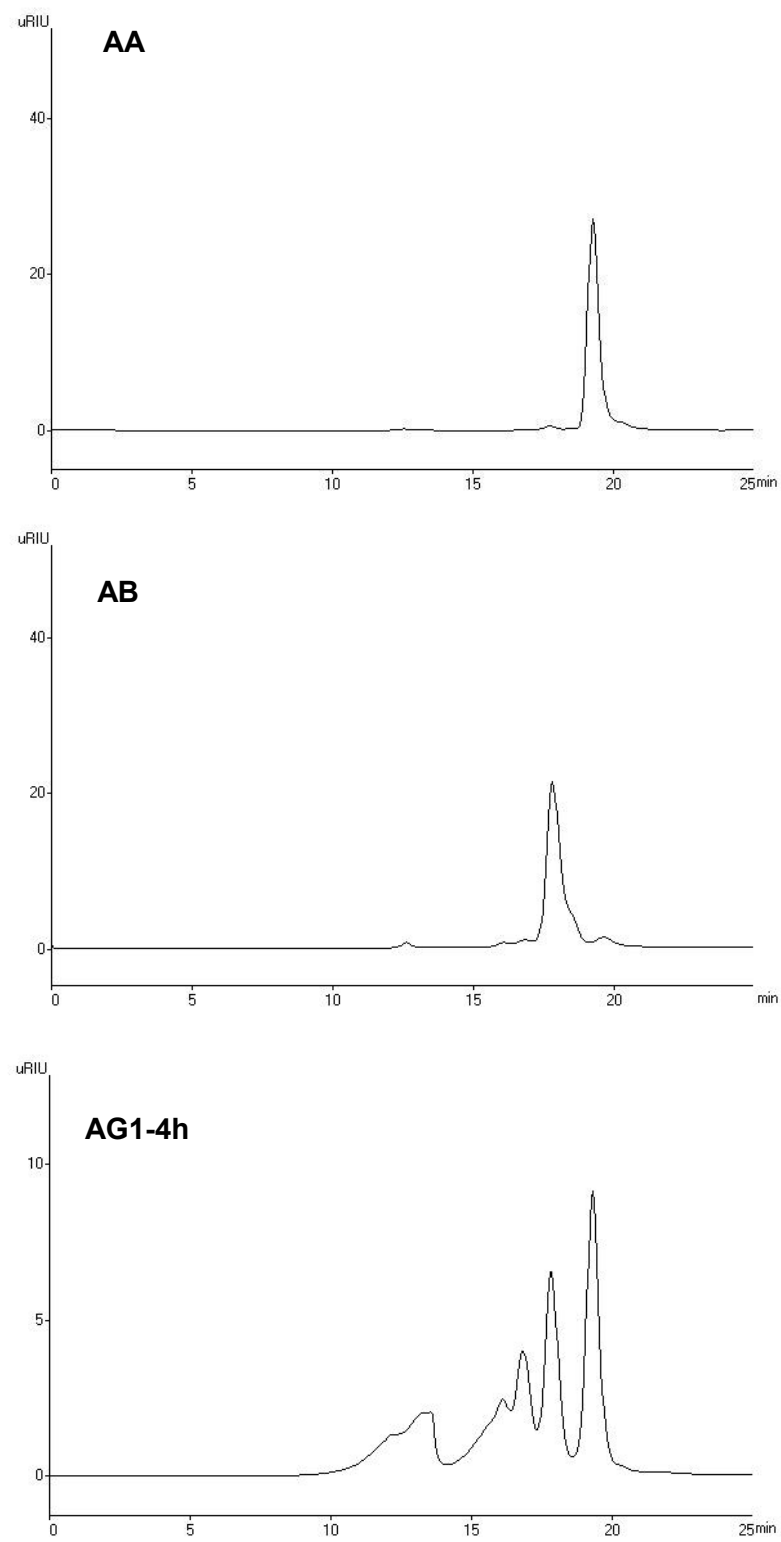


FIGURA 18 – CROMATOGRAMAS DE AA, AB E AG1-4H

A metodologia desenvolvida neste trabalho permitiu uma boa separação de oligossacarídeos com até seis unidades monossacarídicas, sendo que a separação entre di- e tetrassacarídeos permitiu uma boa quantificação.

Curvas de calibração foram construídas para a agarobiose e agarotetraose em concentrações que variaram de 0,25 a 2,0 mg.mL⁻¹ (n = 3). O coeficiente de correlação (R^2) foi de 0,9999 para a curva da agarobiose e 0,9998 para agarotetraose (Figura 19).

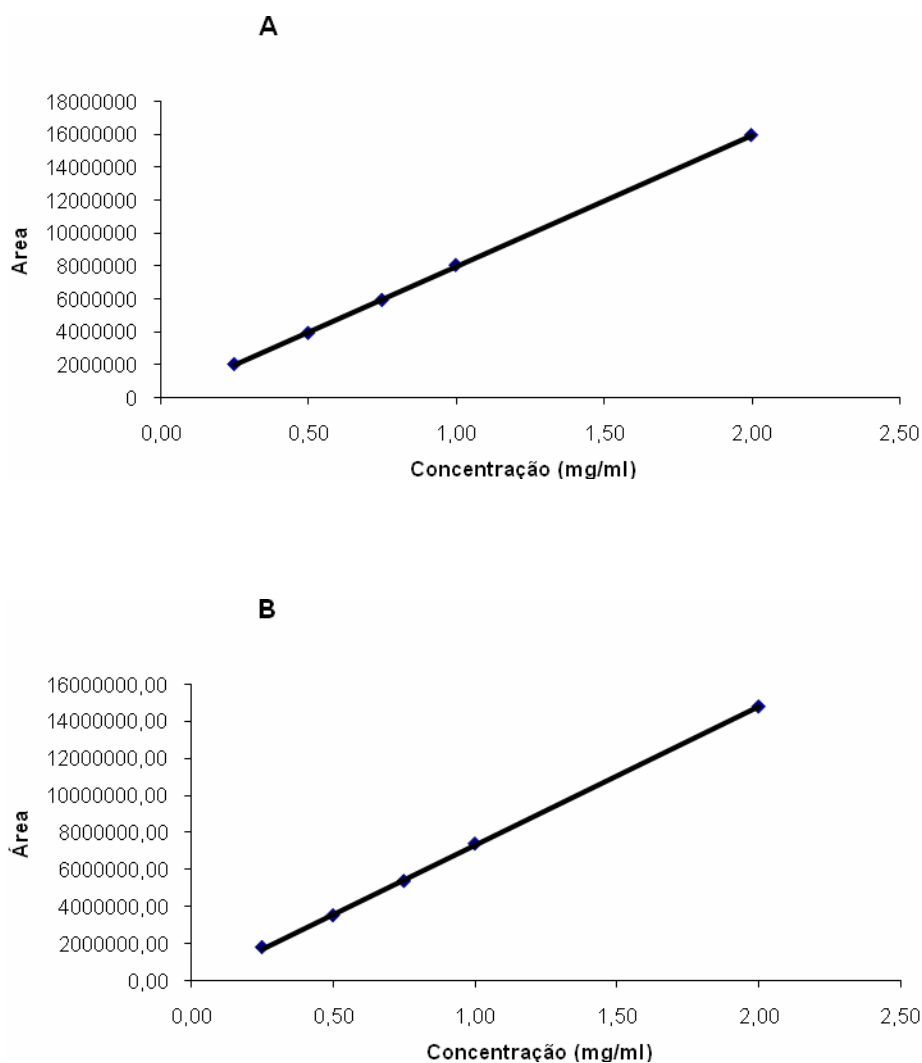


FIGURA 19 – CURVAS DE CALIBRAÇÃO DA AGAROBIOSE (A) E AGAROTETRAOSE (B)

Quantidades conhecidas de AG1 (10 mg) foram hidrolisadas com TFA 0,1 M a 65 °C em diferentes tempos 1-8 h (n = 3). Após a retirada do ácido por liofilização, as amostras foram aplicadas no cromatógrafo. Utilizando as curvas de calibração foi determinada a concentração de agarobiose e agarotetrose presente nos hidrolisados. Na Figura 20 são mostradas as percentagens produzidas de agarobiose e agarotetraose nos diferentes tempos de hidrólise.

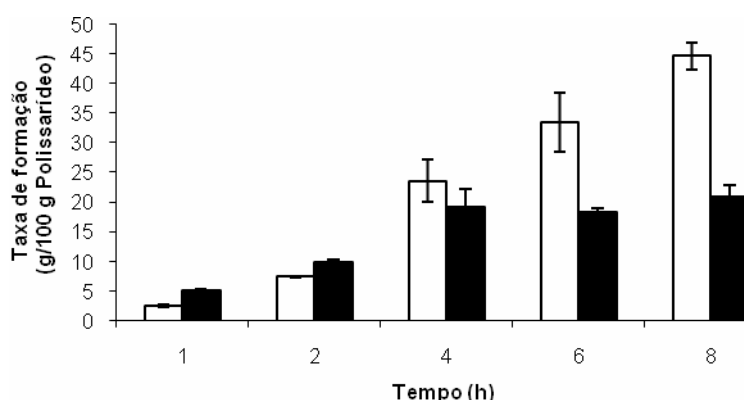


FIGURA 20 – TAXA DE FORMAÇÃO DE AGAROBIOSE (□) E AGAROTETRAOSE (■) NOS DIFERENTES TEMPOS DE HIDRÓLISE

A quantidade de agarobiose não ultrapassa a de agarotetrose até 4 horas de hidrólise. Enquanto a quantidade de dissacarídeo formado aumenta com o tempo de hidrólise, a quantidade de tetrassacarídeo se mantém constante entre 4 e 8 horas. Estes dados indicam que as velocidades de formação e consumo da agarotetraose são constantes nestes tempos. A partir de 6 horas de hidrólise praticamente 50% do hidrolisado corresponde a di- e tetrassacarídeos. Isto indica uma cinética de hidrólise rápida para agarose, como é esperado para galactanas que não possuem substituintes como grupos sulfato estabilizando as ligações glicosídicas.

4.5 SÍNTESE DE *N*-ALQUIL GLICOSÍDEOS SULFATADOS

A utilização de carboidratos como inibidores da adsorção viral a célula hospedeira é bem documentada (DUARTE *et al.*, 2004). Oligossacarídeos e polissacarídeos contendo grupos aniônicos mimetizariam as glicosaminoglicanas ligando-se à glicoproteínas virais e impedindo a adsorção do vírus. Alguns trabalhos mostram que a inserção de grupos hidrofóbicos à cadeias oligossacarídicas teriam um efeito benéfico tornando ativos até oligossacarídeos com baixo grau de polimerização (KATSURAYA *et al.*, 1999).

Recentemente, o nosso laboratório iniciou estudos de modificações química buscando a inserção de grupos hidrofóbicos a oligossacarídeos comerciais e obtidos de galactanas (GONÇALVES *et al.*, 2007; ORSATO, 2007). O modo mais fácil de inserir um grupo hidrofóbico a uma cadeia oligossacarídicas seria a utilização de alquil ou aril aminas em reações de aminação redutiva com oligossacarídeos redutores.

Com este propósito, foi planejado a inserção de grupos *N*-alquilas a cadeias oligossacarídicas, utilizando *n*-alquil aminas de diferentes tamanhos (Figura 21). Lactose foi utilizada para testar as melhores condições de aminação redutiva. Hoagland *et al.* (1979) e Galerlli-Calvet *et al.* (1992) sintetizaram derivados *N*-alquilamina-1-deoxilactitol possuindo cadeias alquilas de diferentes tamanhos. Estes surfactantes apresentam interessantes propriedades e foram utilizados com sucesso na extração de receptores opióides do cérebro de rãs.

Primeiramente a aminação redutiva da lactose **87** com *n*-pentilamina **86a** foi testada de acordo com as condições utilizadas por Hoagland *et al.* (1979) (Esquema 16, condição 1). Após purificação em coluna de sílica gel, houve formação do derivado *N*-pentil-1-deoxilactitol **88a** com baixo rendimento (15%), além de outros subprodutos não identificados.

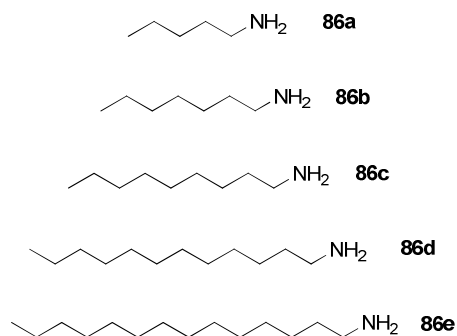
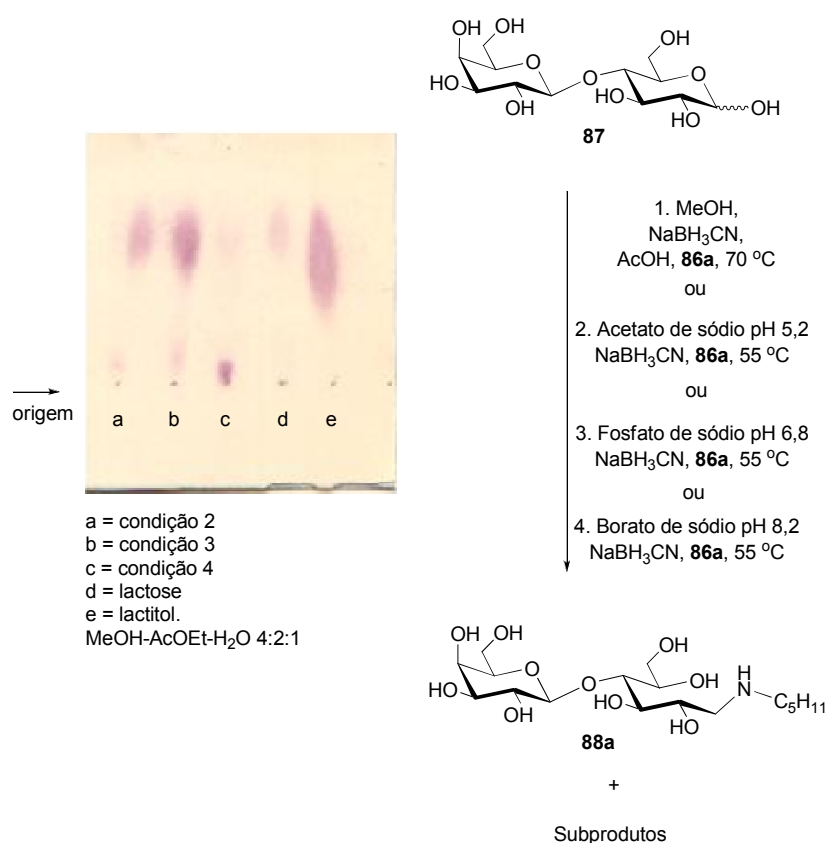


FIGURA 21 – AMINAS UTILIZADAS NA DERIVATIZAÇÃO DOS OLIGOSSACARÍDEOS

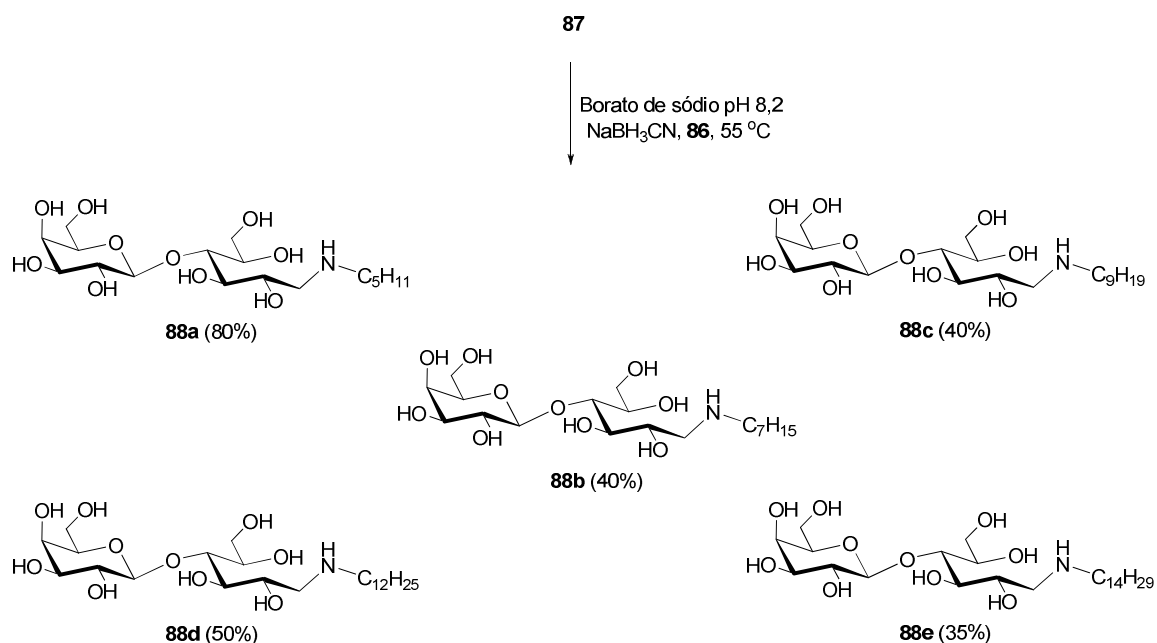


ESQUEMA 16 – AMINAÇÃO REDUTIVA DA LACTOSE EM DIFERENTES CONDIÇÕES

Buscando otimizar as condições de reação, foram testados tampões (MeOH/H₂O) com diferentes pH. Tampões acetato pH 5,2, fosfato pH 6,8 e borato pH 8,1 foram utilizados na reação de lactose **87** com *n*-pentilamina **86a** na presença de NaBH₃CN (Esquema 16). Análises por CCD indicaram uma maior formação do produto **88a** (*R_f* = 0,05) utilizando o tampão borato. Subprodutos não foram observados nestas condições.

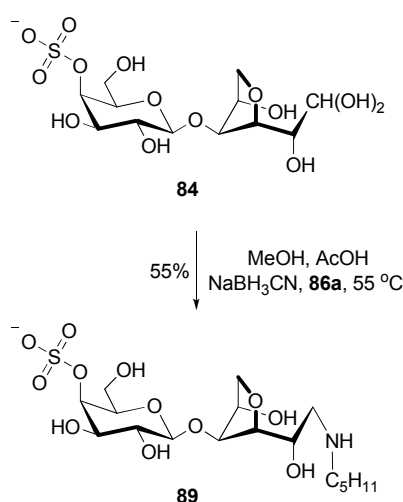
Dessa forma, utilizando o tampão pH 8,2 o composto **88a** foi sintetizado de forma preparativa (Esquema 17). Após purificação em coluna de sílica e coluna aniônica **88a** foi isolado com 80% de rendimento. Derivados da lactose *N*-alquilados **88b-e** foram sintetizados do mesmo modo utilizando *n*-alquil aminas de diferentes tamanhos (Esquema 17).

Todos os compostos foram caracterizados por ESIMS e RMN de ¹³C (anexo, p. A3-A7). Os espectros de RMN foram idênticos aos relatados por Hoagland *et. al.* (1979). Os derivados alquilados da lactose são interessantes materiais de partida para a produção de derivados sulfatados e hidrofóbicos com potencial atividade biológica.



ESQUEMA 17 – SÍNTESE DOS *N*-ALQUIL-1-DEOXILACTITOLS **88**

Visando sintetizar *N*-alquil glicosídeos sulfatados, *Kappa*-carrabiose **84** foi submetida à aminação reductiva com a amina **86a** (Esquema 18). A purificação em coluna de sílica forneceu o *N*-alquil glicosídeo **89** em 55% de rendimento que foi caracterizado por RMN de ^{13}C e ESI MS (anexo, p. A8). O espectro de RMN mostrou deslocamentos característicos para a unidade de *N*-1-desóxi-3,6-anidro-D-galactitol em 49,5 (C-1) e 66.1 (C-2) ppm (ORSATO, 2007). Na análise de ESI MS em modo positivo o pico em m/z 474 $[\text{M} + \text{Na}]^+$ confirmou a estrutura do composto **89**. Este composto juntamente com outros carboidratos sulfatados **90-93** foram testados contra o vírus da herpes (Figura 22). Para estes testes foram utilizadas as cepas de referência HSV-1 (F) e HSV-2 (G) causadoras da herpes labial e genital respectivamente. Adicionalmente, foi utilizada a cepa HSV-2 (MS) que é responsável pela herpes genital em pacientes que sofrem de esclerose múltipla. Foram determinadas as concentrações inibitórias 50% (CI_{50}), a concentração do composto que inibe em 50% o efeito citopático do vírus (placas de lise) (GONÇALVES, 2005).



ESQUEMA 18 – SEMI-SÍNTESE DO *N*-ALQUIL GLICOSÍDEO **89**

Os compostos **90** e **91** foram obtidos por semi-síntese a partir de dissacarídeos obtidos da Agarose e *Kappa*-carragenana (Figura 22) conforme descrito por Gonçalves (2007). Os oligossacarídeos alditóis **92** e **93** foram isolados

após a hidrólise reductiva parcial da *Kappa*-carragenana, conforme descrito por Gonçalves *et al.* (2005).

Os ensaios de atividade viral (Tabela 5) mostraram que o composto **90** foi ativo contra as três cepas do vírus da herpes.

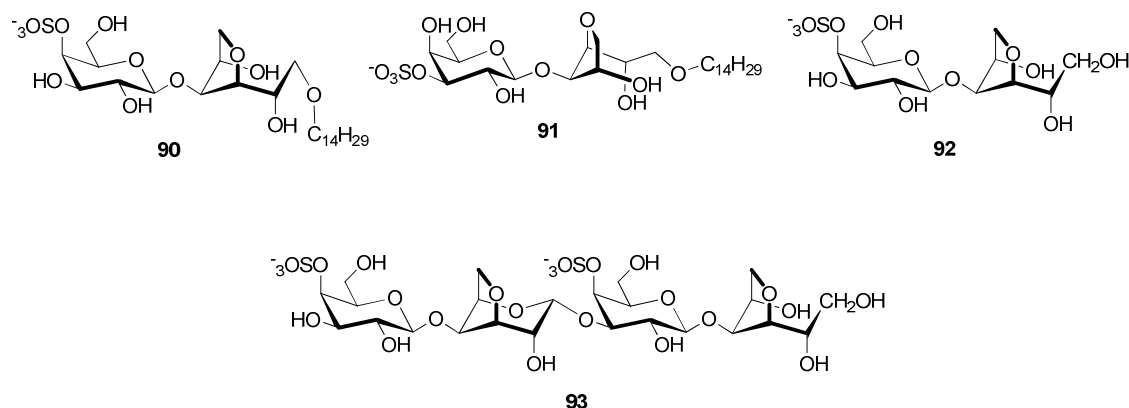


FIGURA 22 – CARBOIDRATOS SULFATADOS TESTADOS CONTRA O VÍRUS DA HERPES

O composto **91** não mostrou atividade contra o vírus da herpes HSV-1 (F), e por isso não foi testado contra as demais cepas. A principal diferença entre o composto **90** e **91** é a posição do grupo sulfato e a estereoquímica das unidades de 3,6-anidro-galactose. Enquanto **90** é sulfatado em C-4' e a unidade anidro da galactose pertence a série D-, o composto **91** é sulfatado em C-3' e a unidade anidro pertence a série L-. Estes resultados claramente indicaram a importância da posição do grupo sulfato e/ou da estereoquímica das unidades de 3,6-anidro-galactose para atividade biológica (GONÇALVES, 2005). Os oligossacarídeos **92** e **93** não mostraram atividade contra o vírus da herpes HSV-1 (F), indicando que a hidrofobicidade do radical alquil desempenha um papel crucial para a atividade antiherpética. O composto **89** sulfatado no C-4 e alquilado não mostrou atividade contra o vírus da herpes. Este resultado indicou que a cadeia alquila de cinco carbonos não foi suficiente para tornar este composto ativo contra vírus. Deve-se ressaltar que o composto **90** embora tenha atividade antiherpética também

apresentou atividade citotóxica. O composto **89**, cujas principais diferenças com **90** são o tamanho do radical alquila e a presença da função amina ao invés da função éter não apresentou atividade citotóxica. Estes dados indicam que deve ser alcançada uma relação ideal entre a cadeia oligossacarídica sulfatada e o radical hidrofóbico para que o composto apresente atividade antiherpética e não seja citotóxico. Ainda, a presença da função amina pode ser importante para que o composto não apresente atividade citotóxica.

TABELA 5- ATIVIDADE ANTIHERPÉTICA DOS CARBOIDRATOS SULFATADOS 89-93

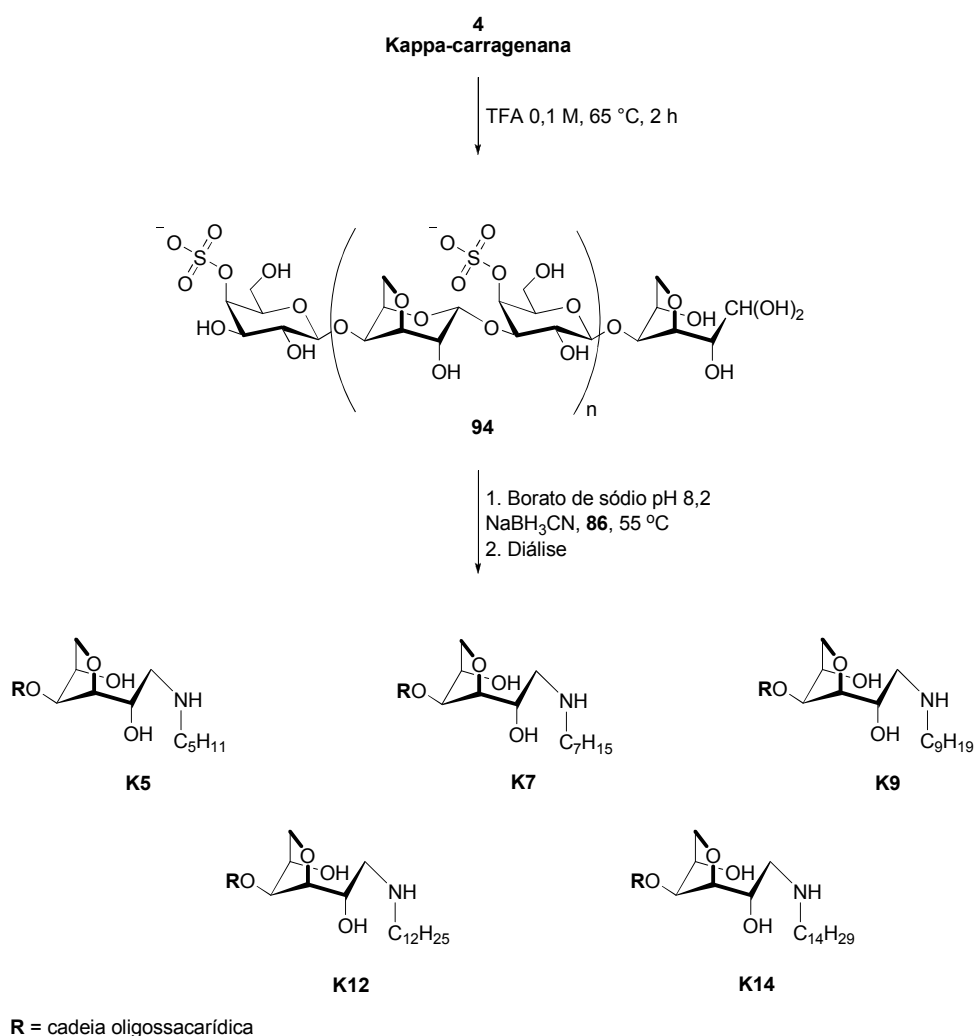
Composto	Concentração inibitória 50% ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)			CC ₅₀ ^b
	HSV-1 (F)	HSV-2 (G)	HSV-2 (MS)	
89	> 100,0	n.d. ^a	n.d. ^a	> 500,0
90	29,8 \pm 1,8	24,8 \pm 3,9	15,1 \pm 1,0	< 62,5
91	> 50,0	n.d. ^a	n.d. ^a	n.d. ^a
92	> 100,0	n. d. ^a	> 100,0	n.d. ^a
93	> 100,0	n.d. ^a	> 50,0	n.d. ^a

^a n.d. = não determinado

^b CC₅₀ = concentração citotóxica 50%

Diante desses resultados, foi planejada a síntese de *N*-alquil glicosídeos sulfatados contendo cadeias oligossacarídicas com alto grau de polimerização e estrutura derivada da *Kappa*-carragenana **4** (Esquema 19). Dessa forma, unidades de galactopirranose 4-sulfato e de 3,6-anidro-D-galactose, que mostraram ser importantes para atividade antiherpética estariam presente nestes *N*-alquil glicosídeos. Ainda, derivados glicosídeos com alto massa molecular poderiam ser sintetizados, uma vez que vários estudos indicam que polissacarídeos de alta massa moleculares apresentam boas atividades biológicas (TALARICO *et al.*, 2005).

Submetendo *Kappa*-carragenana **4** a um período curto de hidrólise (2 h), oligossacarídeos sulfatados com alto grau de polimerização são produzidos contendo unidades de 3,6-anidro-D-galactose no terminal redutor **94**. Foram realizadas reações de aminação reductiva utilizando as aminas **86a-e**. Após diálise contra água destilada e solução de cloreto de sódio para remoção e troca do contra íon do grupo sulfato, foram obtidos os *N*-alquil glicosídeos **K5**, **K7**, **K9**, **K12** e **K14** apresentando um padrão de sulfatação derivado da *Kappa*-carragenana **4**.



ESQUEMA 19 – SÍNTESE DE *N*-ALQUIL GLICOSÍDEOS SULFATADOS A PARTIR DE *KAPPA*-CARRAGENANA

O espectro de RMN de ^{13}C dos *N*-alquil glicosídeos obtidos (Figura 23) indicaram a inserção dos radicais *N*-alquil a unidades de 3,6-anidro-D-galactose. Os sinais de C-1 e C-2 das unidades *N*-alquiladas de 3,6-anidro-D-galactose apareceram em 49,5 e 66,1 ppm, respectivamente. A presença dos sinais na extremidade aminada indica que os fragmentos não possuem uma alta massa molecular. Os espectros indicaram ainda que estão presentes unidades de 3,6-anidro- α -D-galactopiranosose através do sinal de C-1 destas unidades em 94,3 ppm. Este resultado indica a presença de cadeias oligossacarídicas contendo as unidades anidras intercaladas com unidades de galactose. Dosagens do teor de sulfato (Tabela 6) para os *N*-alquil glicosídeos indicaram que os grupos sulfatos não foram perdidos durante a hidrólise e posterior alquilação. Os valores encontrados variaram de 17 a 31% estão próximos ao relatado para *Kappa*-carragena (28%) (ESTEVEZ *et al.*, 2004). Os *N*-alquil glicosídeos **K5** a **K14** são interessantes estruturas para testes de atividade antiherpética.

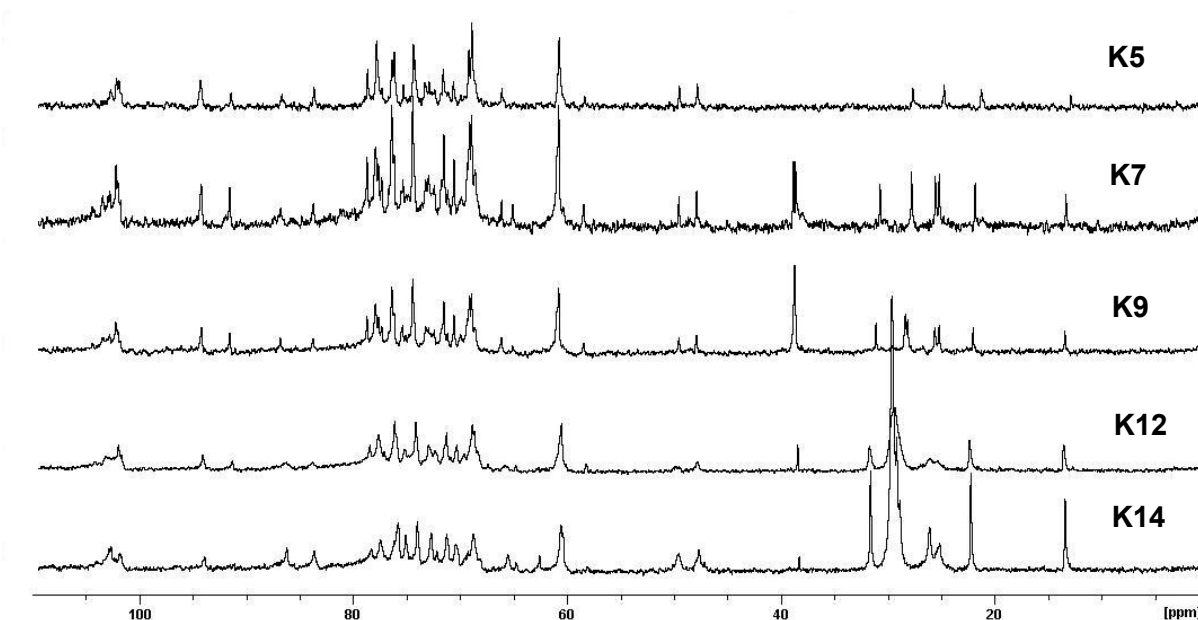


FIGURA 23 – RMN DE ^{13}C DE **K5**, **K7**, **K9**, **K12** E **K14**

TABELA 6 – DOSAGEM DE SULFATO DOS *N*-ALQUIL GLICOSÍDEOS K5 A K14

Amostra	Sulfato (NaSO ₃ %)
K5	24
K7	17
K9	18
K12	21
K14	31

4.6 SEMI-SÍNTESE DE C-GLICOSÍDEOS A PARTIR DA AGAROSE E KAPPA-CARRAGENANA

O desenvolvimento de estratégias para síntese de oligossacarídeos e glicomiméticos é essencial dentro da glicobiologia. A utilização de *building blocks* glicídicos possibilita a síntese de novos glicomiméticos de forma rápida e eficiente (SEEBERGER; WERZ, 2005). Os *building blocks* (BB) são como pequenos “tijolos” utilizados na “construção” de estruturas mais complexas. Os BB glicídicos constituídos de açúcares raros são substratos ideais para síntese de coleções de compostos (*chemical libraries*), como geradores de diversidade molecular (SOFIA, 1998). Nesse sentido, a utilização de galactanas para obtenção de BB glicídicos é extremamente vantajosa.

Dependendo da fonte utilizada, carragenanas ou agaranas, derivados monossacarídicos e dissacarídicos contendo unidades de D- e L-galactose podem ser obtidos. A presença do derivado 3,6-anidro D- ou L-galactose nestes polímeros permite a quebra seletiva das ligações glicosídicas através de hidrólise ácida, possibilitando o controle na degradação destes polissacarídeos para a obtenção de BB. O anidro açúcar é ainda interessantíssimo do ponto de vista estrutural pois o

anel anidro entre o C-6 e C-3 forma um anel tetrahydrofurano que possui a mesma configuração que o açúcar treose (Figura 24). Dessa forma, por definição as unidades de 3,6-anidro-galactose podem ser classificadas como C-glicosídeos da treose.

A obtenção de BB glicídicos possuindo domínios tetrahydrofurano hidroxilados em ambas as formas enantioméricas D- e L- apresenta algumas vantagens. Derivados tetrahydrofurano hidroxilados são muito utilizados na síntese de compostos bioativos como antibióticos, nucleosídeos e nucleotídeos (CENTRONE; LOWARY, 2002; WANG *et al.*, 2003). Além disso, recentemente tem-se reconhecido a importância de carboidratos dentro da química orgânica como ligantes quirais, auxiliares de indução assimétrica e organocatalisadores (BOYSEN, 2007; DIEGUEZ; CLAVER; PAMIES, 2007). Uma das principais limitações do uso de carboidratos nesta área é que apenas um dos enantiômeros glicídicos é facilmente obtido a um baixo custo. Dessa forma, a utilização de galactanas para produção de BB que guardam entre si uma relação de isomeria ótica é muito promissora.

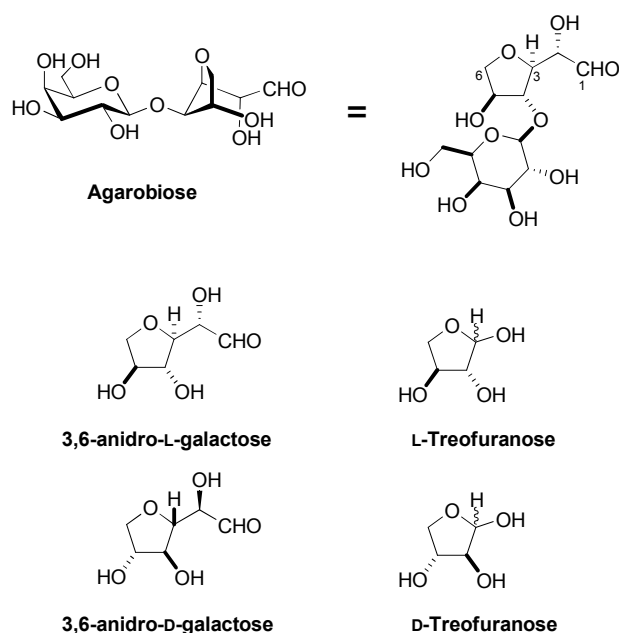


FIGURA 24 – ESTRUTURA DA 3,6-ANIDRO-D- E L-GALACTOSE E D- E L-TREOFURANOSE

Foi planejada a síntese de BB glicídicos a partir da *Kappa*-carragenana **4** e Agarose **3**, dois polissacarídeos comercialmente disponíveis a um baixo custo e em grande quantidade. Foram sintetizados em escala preparativa BB monossacarídicos e dissacarídicos com hidroxilas protegidas por estáveis grupos benzil e apresentando uma função aldeído. Estes BB apresentam uma unidade de treofuranose, derivada da 3,6-anidro-galactose, na forma enantiomérica D- ou L. Uma característica destes derivados é a presença da estável ligação carbono-carbono envolvendo o carbono anomérico das unidades de treofuranose. Ainda, um dos dissacarídeos BB apresenta na sua estrutura o grupo sulfato (Figura 25).

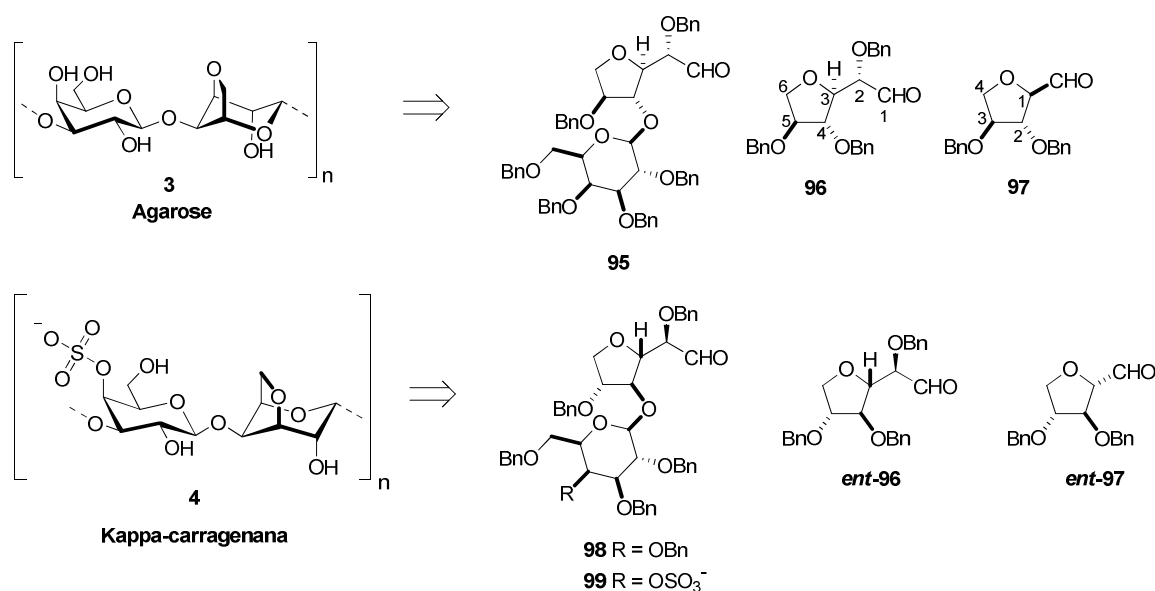
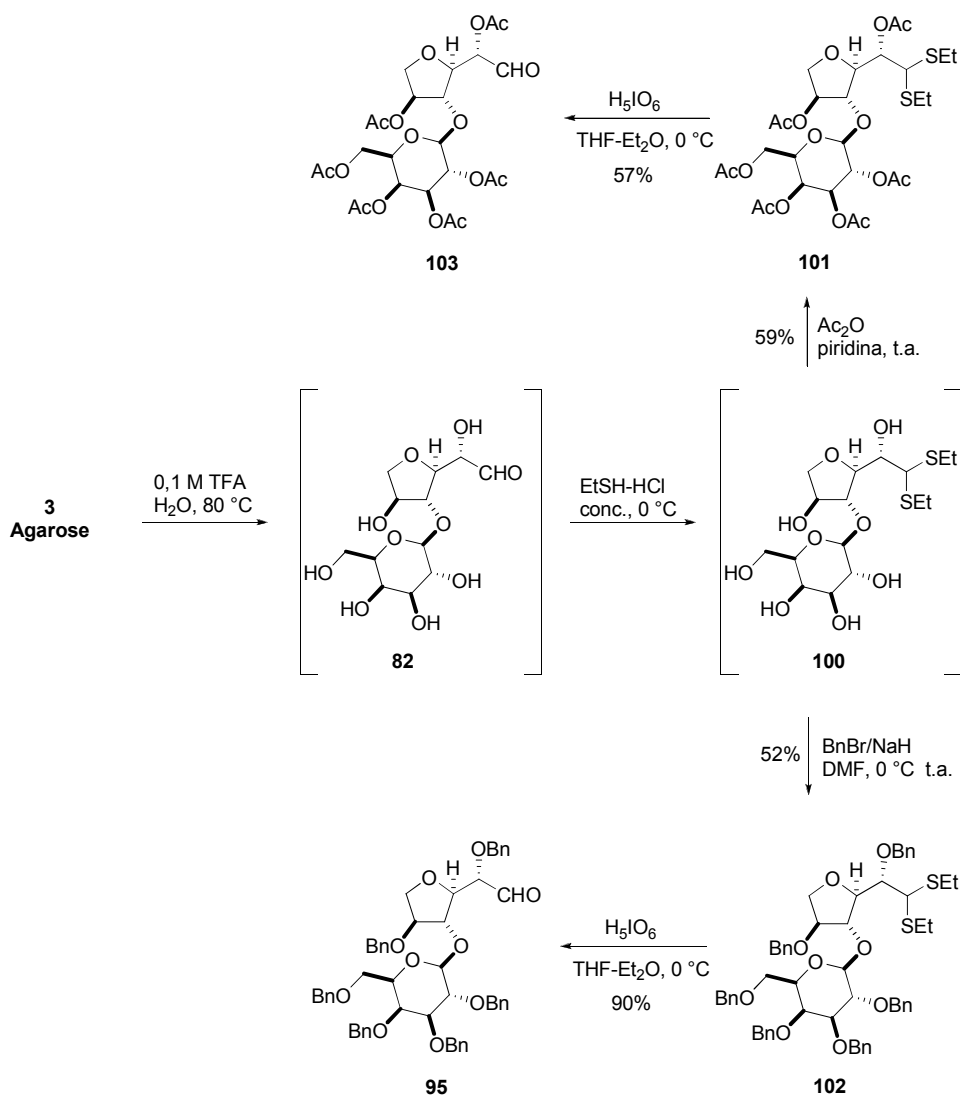


FIGURA 25 – BUILDING BLOCKS GLICÍDICOS PREPARADOS A PARTIR DA AGAROSE E KAPPA-CARRAGENANA

Para a produção do BB aldeído **95**, Agarose **3** (5 g) foi submetida a hidrólise ácida parcial de acordo com o procedimento de Stevenson e Furneaux (1991) (Esquema 20). A hidrólise formou principalmente agarobiose **82** através da quebra seletiva das ligações alfa envolvendo as unidades de 3,6-anidro-L-galactose. Este hidrolisado foi tratado com etanotiol (EtSH) e HCl concentrado para produção de um material bruto contendo o derivado ditioacetal da agarobiose **100**. Utilizando

cromatografia em sílica, o composto **100** foi isolado a partir de uma pequena quantidade do material bruto em 59% de rendimento.



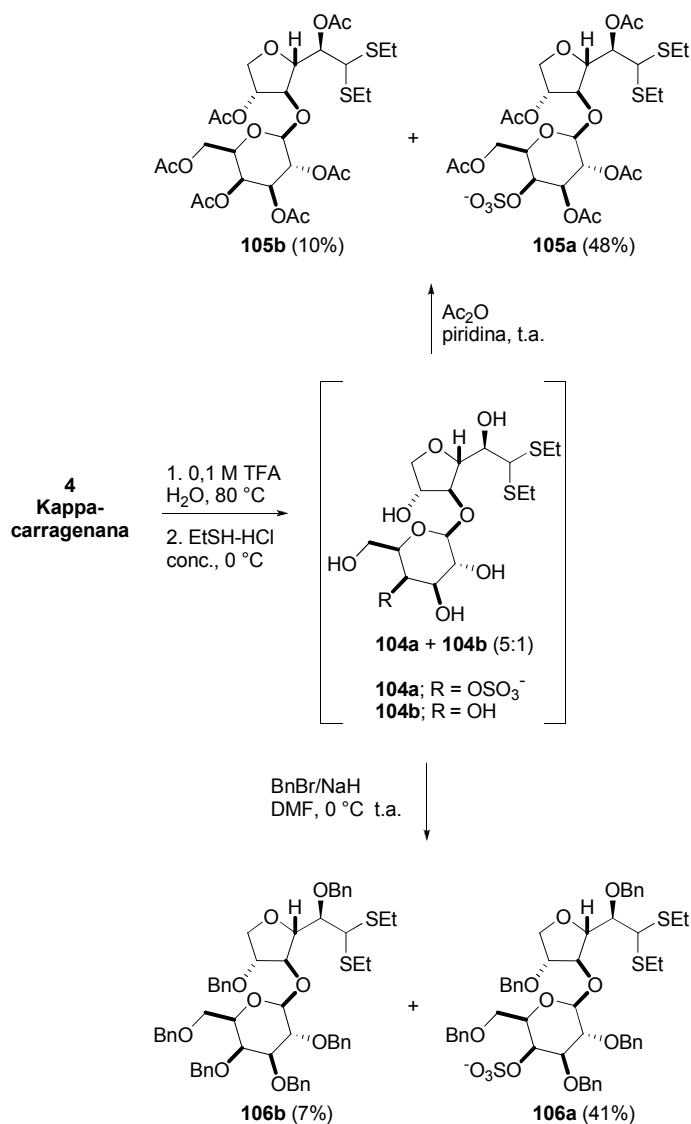
ESQUEMA 20 – SEMI-SÍNTESE DO BB **95** E **103** A PARTIR DA AGAROSE **3**

A acetilação de uma pequena fração do material bruto forneceu o derivado acetilado da agarobiose ditioacetil **101** que confirmou o rendimento da produção de **100** a partir da Agarose **3** em 59%. O material bruto contendo **100** (~ 4,00 g) foi benzilado utilizando NaH e brometo de benzila (BnBr) em dimetilformamida (DMF) para fornecer o dissacarídeo **102** em 52% de rendimento a partir da Agarose **3**.

Como última etapa para alcançar o BB **95**, o composto **102** foi hidrolisado usando ácido periódico (SHI; KHANAPURE; ROKACH, 1996) em uma mistura de tetrahidrofurano/éter (THF/Et₂O). Dessa forma, foi evitado o uso de sais tóxicos de mercúrio, reagentes amplamente utilizados na clivagem de grupos ditioacetal. A hidrólise do composto **102** forneceu o BB **95** em 90% de rendimento (47% a partir da Agarose **3**) e praticamente puro como demonstraram as análises por RMN de ¹H e CCD (anexo, p. A12). A formação de um único produto sugeriu que não houve epimerização do estereocentro presente no C-2 do composto **95** durante a oxidação.

Foi investigada também a possibilidade de se obter o aldeído **103** protegido por grupos acetil. Dessa forma, a acetilação em escala preparativa do material bruto (~ 2,50 g) contendo **100** com piridina e anidrido acético (Ac₂O) forneceu **101** em 59% de rendimento a partir da Agarose **3**. A hidrólise do composto **101** a **103** utilizando ácido periódico gerou uma mistura complexa e o aldeído **103** foi isolado em apenas 57% de rendimento e em aproximadamente 80% de pureza conforme indicou o espectro de RMN de ¹H (anexo, p. A13). Estes dados indicaram uma maior estabilidade dos grupos benzil frente ao ácido periódico, estimulando a proteção de todos os BB com este grupo.

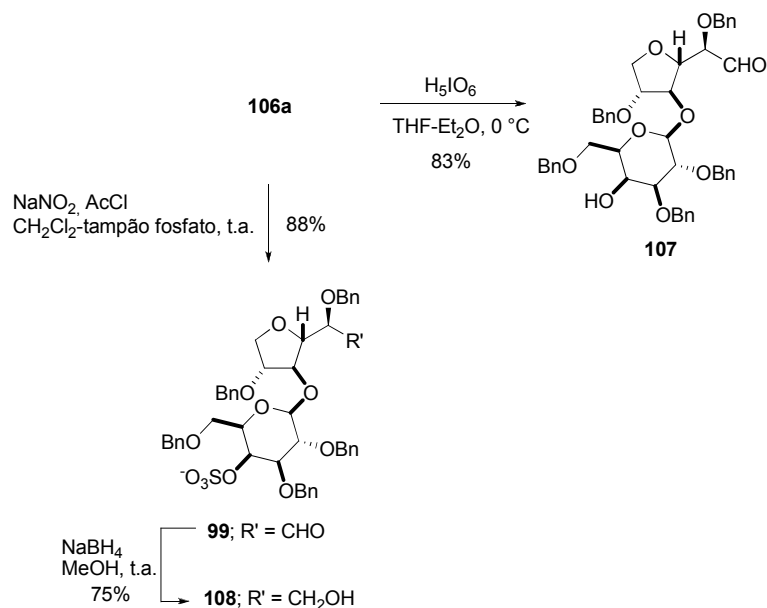
A mesma estratégia foi aplicada para obtenção dos dissacarídeos BB **98** e **99**. A hidrólise ácida parcial de *Kappa*-carragenana **4** e o tratamento do hidrolisado obtido com EtSH e HCl forneceu um material bruto contendo uma misturas dos dissacarídeos ditioacetal sulfatado **104a** e não sulfatado **104b** numa relação de 5:1 (Esquema 21). A relação foi estimada a partir do isolamento de **104a** e **104b** em coluna de gel de sílica e através da acetilação de uma pequena parte do material bruto para isolamento dos derivados acetilados **105a** e **105b**. Os derivados **105a** e **105b** foram obtidos num rendimento de 48 e 10% respectivamente, a partir da *Kappa*-carragenana **4**.



ESQUEMA 21 – SEMI-SÍNTESE DOS DERIVADOS **106a** E **106b**

A presença do grupo sulfato em **104a** foi confirmada pela análise de ESIMS em modo negativo e por RMN de 1H (anexo, p. A14 e A15). O espectro de massas mostrou um pico em m/z 509 $[M - H]^-$, enquanto que o espectro de 1H mostrou um duplo duplete em campo alto (4,65 ppm) com uma constante baixa de acoplamento (3,65 Hz) característico dos hidrogênios H-3 e H-4 em unidades de galactose. Estes resultados excluíram a hidrólise do grupo sulfato e/ou migração durante as condições ácidas empregadas na hidrólise e mercaptolização. O material bruto (~ 3,00 g) contendo **104a** e **104b** foi benzilado em escala preparativa com NaH e BnBr

para fornecer os derivados benzilados **106a** e **106b** em 41 e 7% de rendimento a partir da *Kappa*-carragenana **4**. O derivado benzilado **106a** foi tratado com ácido periódico para remoção do grupo ditioacetal (Esquema 22). Entretanto, nestas condições foi observada a perda dos grupos sulfato e formação do aldeído **107**.

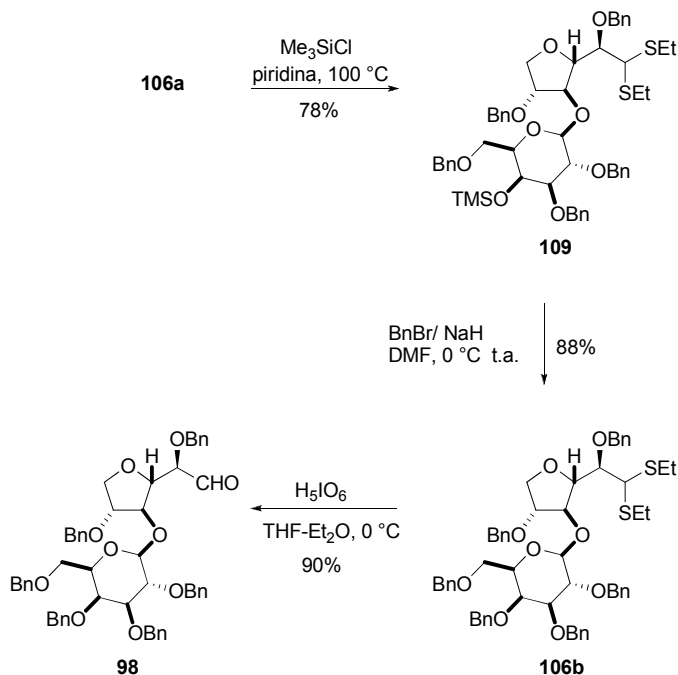


ESQUEMA 22 – SEMI-SÍNTESE DO BB **99** A PARTIR DE *KAPPA*-CARRAGENANA **4**

A perda do grupo sulfato foi confirmada pela análise de RMN de ¹H do composto **107** e de seu derivado 4'-tricloroacetil carbamato gerado no tubo de RMN após adição de tricloroacetil isocianato (anexo, p. A22). A análise por CCD e de RMN indicaram ainda que a remoção dos grupos sulfatos ocorreu antes da formação do grupo aldeído. Buscando produzir o BB **99** sulfatado foi utilizado um outro método com nitrito de sódio (NaNO₂), cloreto de acetila (AcCl) em diclorometano (CH₂Cl₂) e tampão fosfato (KHAN; MONDAL; SAHY, 2003). Nesta condição o BB **99** foi produzido em 88% de rendimento após cromatografia em coluna de sílica. O provável mecanismo deve envolver a formação de íons NO⁺ que reagiriam exclusivamente com os átomos de enxofre da função ditioacetal. A análise de RMN

de ^1H indicou que **99** estava num equilíbrio entre sua forma de aldeído e aldeído hidratado. A análise de **99** por RMN de ^1H ($\text{DMSO}-d_6$) em altas temperaturas (120 - 160 °C) falharam em produzir o aldeído **99** na sua forma não hidratada. Epimerização e perda de sulfato foram observadas. Dessa forma, o BB **99** foi reduzido com NaBH_4 e caracterizado como seu respectivo álcool **108**.

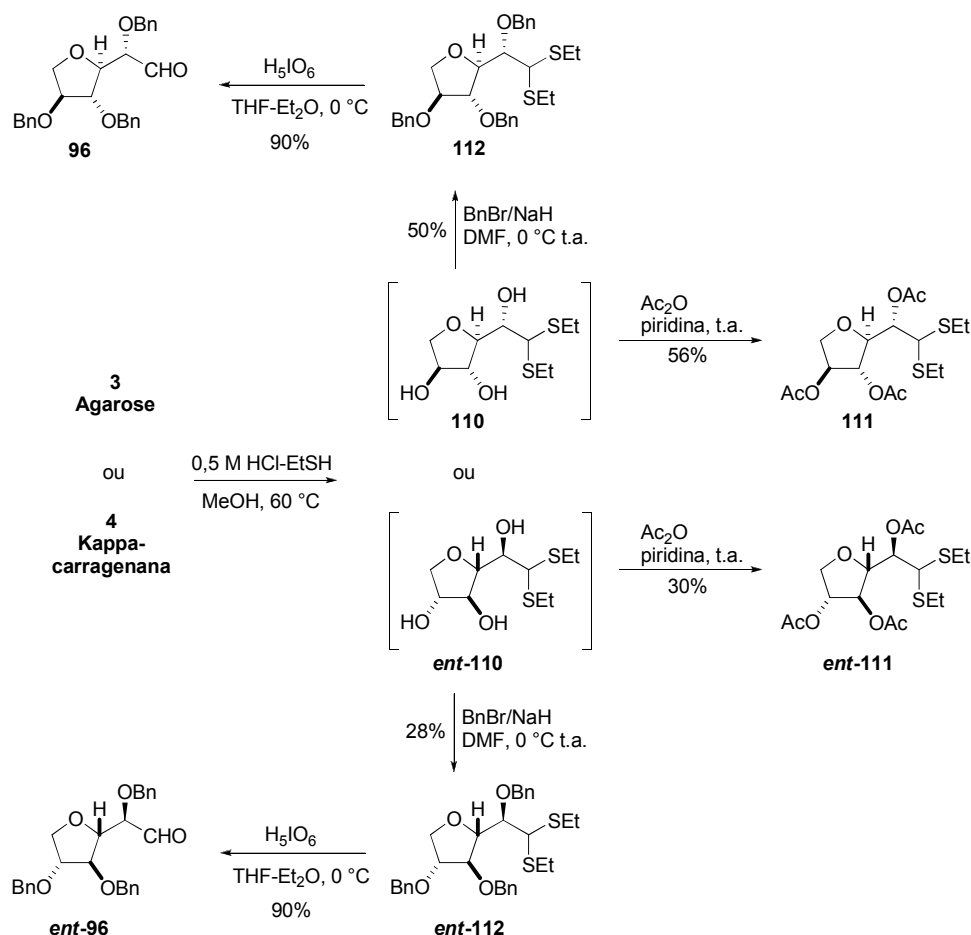
Como última etapa na preparação de dissacarídeos aldeídos BB, foi elaborada uma estratégia para obtenção do BB **98** a partir do derivado **106a** obtido em maior quantidade da degradação de *Kappa*-carragenana **4** (Esquema 23). A etapa chave consistia numa desulfatação do derivado benzilado **106a**. Vários reativos tem sido utilizados na desulfatação de carboidratos e polissacarídeos (TAKANO *et al.*, 1995; MILLER; BLUNT, 1998). Com este propósito, foi utilizado clorotrimetilsilano (CTMS), uma vez que este reativo mostrou-se eficiente na desulfatação de *Kappa*-carragenana **4** (KOLENDER; MATULEWICZ, 2004). O tratamento de **106a** com CTMS em piridina 100 °C forneceu o derivado 4'-O-trimetilsilil **109** em 78% de rendimento. Vale a pena ressaltar que o composto **109** é um interessante BB pois é protegido de forma ortogonal possibilitando a manipulação alternativa de C-4', C-1, bem como das outras hidroxilas benziladas. A conversão de **109** no BB alvo **98** foi alcançada após benzilação e hidrólise com ácido periódico com bons rendimentos (88 e 90%, respectivamente)



ESQUEMA 23 – SEMI-SÍNTESE DO BB **98** PARTIR DO INTERMEDIÁRIO **106a**

Visando obter os BB aldeídos da 3,6-anidro-galactose **96** e *ent*-**96**, Agarose **3** e *Kappa*-carragenana **4** foram submetidas separadamente à mercaptólise total (Esquema 24). Nestas condições ambas as ligações glicosídicas α - e β - são clivadas. Em seguida, ocorre a formação do derivado ditioacetal da 3,6-anidro-galactose na presença de HCl e EtSH. Vários trabalhos relatam a mercaptólise completa de galactanas em escala analítica e preparativa (O'NEILL, 1955a; ARAKI; HIRASE, 1953). Entretanto, na maioria destes estudos a mercaptólise foi trabalhosa e consumiu muito tempo. Neste trabalho foram realizadas algumas modificações na metodologia de Hama *et al.*, (1999), como por exemplo a diminuição da quantidade de EtSH e a utilização de reativos não anidros. Dessa forma, Agarose **3** e *Kappa*-carragenana **4** (6 g cada) foram separadamente aquecidas a 60 °C por 17 h numa mistura de HCl/MeOH/EtSH (Esquema 24). Após a neutralização com NaOH e extração do hidrolisado com éter etílico (Et₂O), extratos brutos contendo os monossacarídeos ditioacetal **110** e *ent*-**110** foram obtidos. Cromatografia em coluna de gel de sílica permitiram isolar **110** e *ent*-**110** para caracterização química, além

de auxiliar na determinação do rendimento da mercaptólise em 56% e 30% (a partir da Agarose **3** e *Kappa*-carragenana **4** respectivamente).



ESQUEMA 24 – SEMI-SÍNTESE DOS BB **96** E *ent*-**96** A PARTIR DE GALACTANAS

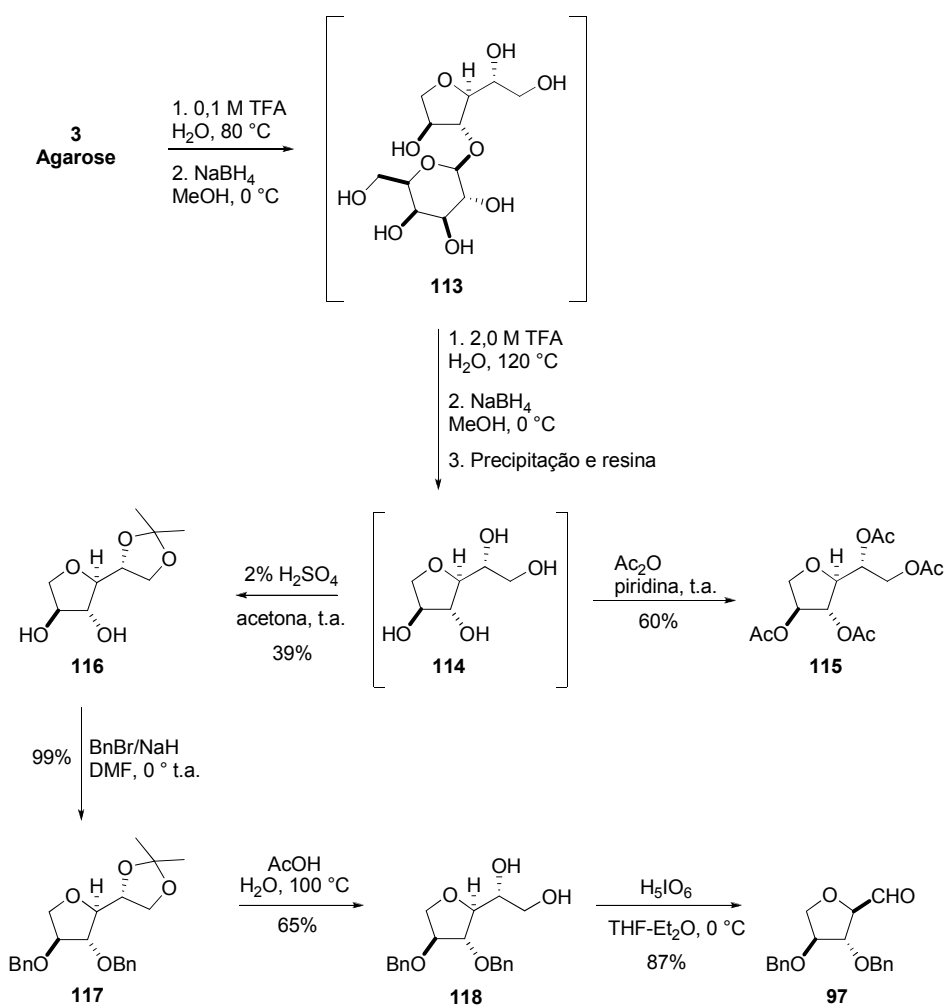
Como era esperado, os compostos **110** e *ent*-**110** apresentaram espectros de RMN idênticos além do mesmo valor absoluto de poder rotatório ($[\alpha_D]$). A acetilação de pequenas quantidades dos extratos brutos forneceram os derivados acetilados **111** e *ent*-**111** e confirmaram o rendimento da mercaptólise. A diferença de rendimento na obtenção de **110** e *ent*-**110** se deve a menor taxa de hidrólise observada para *Kappa*-carragenana **4** em relação a Agarose **3**. O grupo sulfato de **4** confere uma maior estabilidade a ligação glicosídica α - através de interações

estéricas e eletrônicas (REES, 1963). Isto impede a liberação de 3,6-anidro-galactose e conseqüentemente a formação do derivado ditioacetal **ent-110**. Além disso, *Kappa*-carragenana **4** mostrou-se menos solúvel na mistura reacional, provavelmente devido as suas características aniônicas. Continuando o plano sintético traçado, os extratos brutos contendo **110** e **ent-110** foram benzilados com BnBr e NaH em DMF para fornecer **112** e **ent-112**, respectivamente. A conversão destes derivados benzilados nos seus respectivos BB aldeídos **96** e **ent-96** ocorreu através da hidrólise com ácido periódico em 90% de rendimento. O rendimento total do BB **96** foi de 45% a partir da Agarose **3** e do **ent-96** foi de 25% a partir da *Kappa*-carragenana **4**.

O desenvolvimento de rotas de síntese para produção de C-formil glicosídeos BB são importantes para síntese de C-glicosídeos com potencial atividade biológica (DONDONI, 2000; DONDONI; SCHERMANN, 1994). Dessa forma a preparação dos C-formil BB da D- e L-treose **97** e **ent-97** foi planejada a partir das unidades de 3,6-anidro-galactose presentes na Agarose e *Kappa*-carragenana. Uma das estratégias desenvolvidas (Esquema 25) consistiu na manipulação ortogonal das hidroxilas do derivado 3,6-anidro-L-galactitol **114**.^{*} A estratégia foi primeiramente testada com a Agarose **3**. Assim, 10 g de polissacarídeo foram submetidas a hidrólise ácida parcial em duas etapas. Neste processo, descrito por Stevenson e Furneaux (1991) para análise da composição monossacarídica de galactanas por GLC, é realizada uma primeira hidrólise branda (TFA 0,1 M, 80 °C, 3 h) para clivar apenas as ligações envolvendo o carbono anomérico das unidades de 3,6-anidro-galactose. Em seguida, estas unidades foram reduzidas para fornecer o oligossacarídeo alditol **113**. Uma segunda hidrólise mais drástica (TFA 2 M, 120 °C, 3 h) promoveu a quebra das ligações beta do dissacarídeo **113** e a liberação da galactose e 3,6-anidro-L-galactitol **114**. Uma segunda redução foi realizada para transformar a galactose em galactitol. O tratamento desta mistura com MeOH e acetona (1:3 vol), filtração e resinas aniônica e catiônica forneceu um material bruto contendo principalmente o alditol **114**. A acetilação de uma pequena parte deste material forneceu o derivado peracetilado do 3,6-anidro-L-galactitol **115** e permitiu estimar o rendimento de **114** a

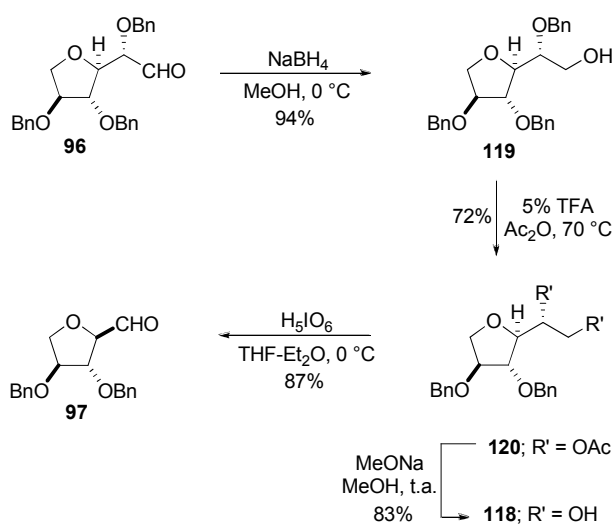
^{*} Para evitar confusão a nomenclatura do composto **114** será mantida de acordo com a do seu precursor 3,6-anidro-L-galactose. Na verdade, a correta nomenclatura para o composto **114** é 1,4-anidro-D-galactitol.

partir da Agarose **3** em 60%. O material bruto foi tratado com acetona e H_2SO_4 para fornecer o derivado isopropilideno **116**. Em seguida o derivado **117** foi obtido através da benzilação de **116** com BnBr e NaH em DMF. O tratamento de **117** com AcOH a $100\text{ }^\circ\text{C}$ removeu o grupo isopropilideno para formar o diol **118**. A oxidação de **118** com ácido periódico produziu a quebra da ligação carbono-carbono entre C-1 e C-2 e formação do BB aldeído **97**. Este derivado é o C-formil α -L-treofuranosídeo e foi obtido a partir da Agarose **3** em 24% de rendimento.



ESQUEMA 25 – SEMI-SÍNTESE DO BB **97** VIA PROTEÇÃO SELETIVA DO INTERMEDIÁRIO ALDITOL **114**

O grande número de etapas tornaram a estratégia descrita no Esquema 25 trabalhosa. Visando utilizar uma rota mais simples para produção dos BB **97** e *ent*-**97**, uma nova estratégia foi planejada a partir dos BB **96** e *ent*-**96**. O passo chave nesta estratégia consistiu na debenzilação seletiva de C-2 do derivado alditol **119** (Esquema 26). Dessa forma, o composto **119** foi produzido quase que quantitativamente a partir da redução de **96**. Vários métodos são relatados para a debenzilação seletiva de carboidratos (BOUZIDE; SAUVÉ, 1999; CAO; OKADA; YAMADA, 2006). Após alguns testes com diferentes ácidos como catalisadores, a utilização de TFA 5% em Ac₂O mostrou-se eficiente na debenzilação seletiva de **119** e produção de **120**. O composto **120** foi obtido levemente contaminado num rendimento de 72%. De forma semelhante à relatada por Bouzide e Sauvé (1999) durante um estudo de debenzilação seletiva de pentofuranoses, a quelação entre o oxigênio básico do anel furanosídico e do oxigênio benzílico de C-2 com o íon H⁺ poderia explicar a seletividade observada nesta debenzilação. A deacetilação de **120** com metóxido de sódio forneceu o diol **118** em 83% de rendimento, que foi em seguida oxidado com ácido periódico ao BB **97**. O procedimento descrito no Esquema 26 foi utilizado na produção de *ent*-**97** a partir de *ent*-**96** com rendimentos semelhantes. Assim, ambas as formas enantioméricas da C-formil α -treofuranose foram produzidas.



ESQUEMA 26 – SEMI-SÍNTESE DO BB **97** VIA DEBENZILAÇÃO SELETIVA DO INTERMEDIÁRIO **119**

O enantiômero L- da treose é o mais raro. Este enantiômero pode ser obtido comercialmente* ou através de síntese utilizando L-arabinose (PERLIN, 1962) ou D-glucose (MONRAD; MADSEN, 2007) como material de partida. Alguns derivados protegidos da L-treose podem ser usados na produção de nucleotídeos. Os nucleotídeos de L-treose são compostos chave na síntese de TNA (*2',3'- α -L-threose nucleic acid*) (Figura 26) (SCHONING *et al.*, 2002; CHAPUT; SZOSTAK, 2003; ZOU *et al.*, 2005). Schöning *et al.* (2000) demonstraram que o TNA é capaz de fazer o mesmo pareamento de bases observados para o DNA e RNA. Estudos mostraram que a DNA e RNA polimerase são capazes de incorporar os nucleotídeos de L-treose a fitas de DNA e RNA respectivamente (CHAPUT; SZOSTAK, 2003). Os resultados do grande número de estudos envolvendo o TNA tem levantado a hipótese de que no passado TNA poderia ter sido um precursor do RNA (JOYCE, 2002).

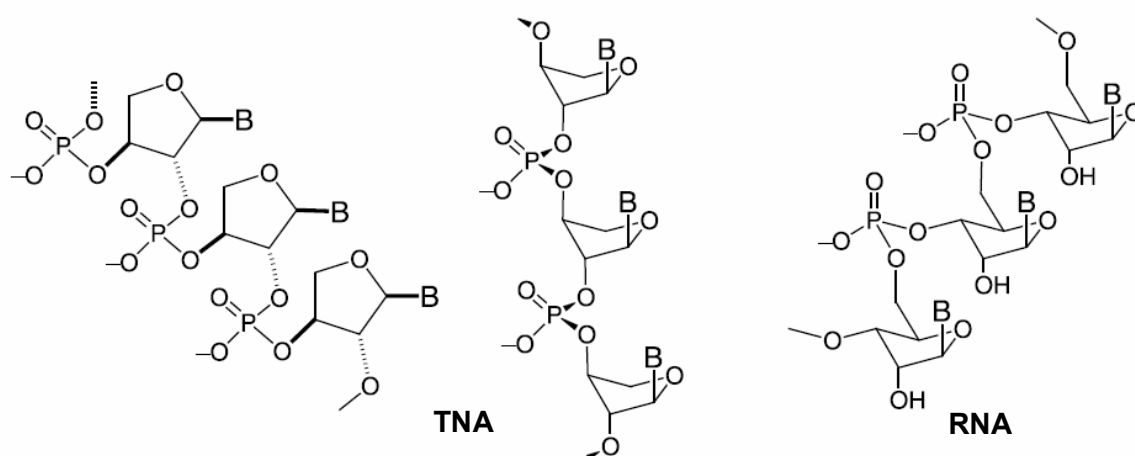
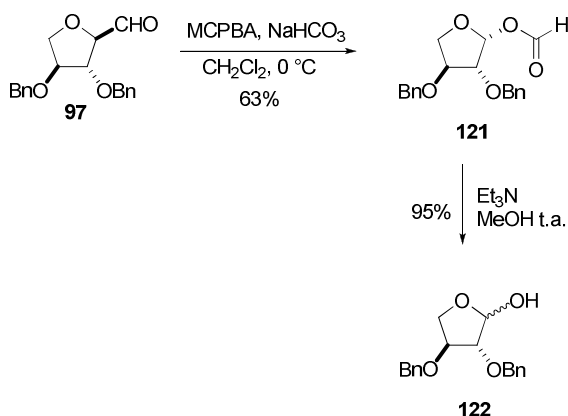


FIGURA 26 – ESTRUTURA DO TNA E RNA (Fonte: Schoning *et al.*, 2000)

Utilizando o BB **97** foi sintetizado o derivado 2,3-Di-O-benzil-L-treose **122** (Esquema 27). Utilizando oxidação de Baeyer-Villiger com ácido *m*-cloroperbenzóico (MCPBA) o BB **97** foi transformado no intermediário O-formil **121** através da excisão

* 500 mg de L-treose custam 250 dólares. Fonte: Carbosynth. Disponível em <www.carbosynth.com> acesso em 25/11/2008.

da ligação carbono-carbono envolvendo o grupo formil e o carbono anomérico de **97**. O composto **121** foi obtido com 63% de rendimento e apenas na configuração β -. Esta configuração foi assinalada através do experimento de RMN de ^1H , baseando-se na ausência de NOE no H-3 quando H-1 foi irradiado (anexo, p. A39). O grupo formil de **121** foi removido em condições básicas com trietilamina (Et_3N) para fornecer o derivado alvo benzilado **122** em 95% de rendimento, caracterizado por RMN de ^1H (anexo, p. A40). O composto **122** pode ser utilizado na síntese de nucleotídeos de L-treose.



ESQUEMA 27 – SEMI-SÍNTESE DO DERIVADO DA L-TREOSE **122** A PARTIR DO BB **97**

4.7 SÍNTESE DE DIHIDROPIRIDINAS GLICOSILADAS ATRAVÉS DA REAÇÃO DE MULTICOMPONENTES DE HANTZSCH

Devido às propriedades farmacológicas que as DHPs apresentam, os BB obtidos da degradação da Agarose **3** e *Kappa*-carragenana **4** (Figura 25 p. 93) foram utilizados na produção de DHPs glicosiladas através da reação de multicomponentes de Hantzsch.

O BB α -hidroxi aldeído **96** foi escolhido como substrato para encontrar as melhores condições de reação utilizando o β -cetoéster **123** e a enamina **124** em MeOH (Tabela 7). O aldeído **96** foi escolhido pois possui um estereocentro

facilmente epimerizável. Dessa forma, as melhores condições otimizadas para este substrato poderiam ser utilizadas para todos os BB **95-99**.

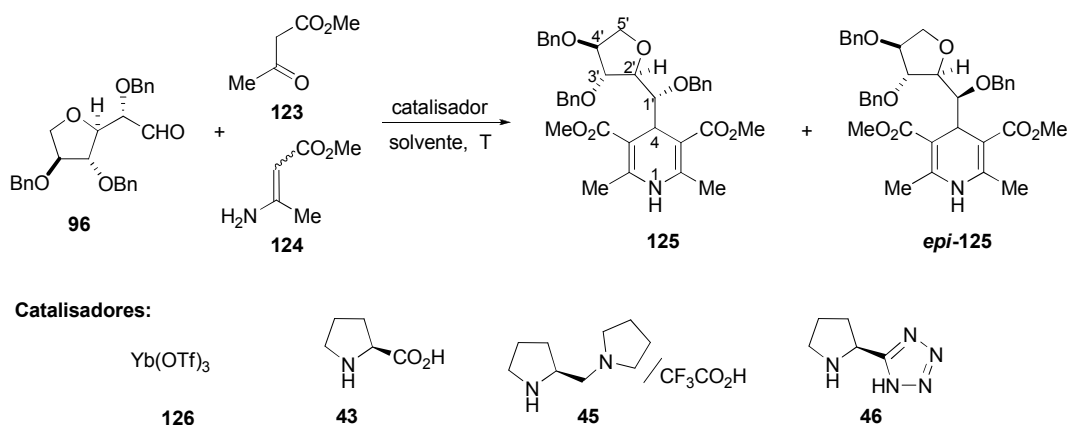
Inicialmente foram testadas condições que se mostraram favoráveis na síntese de DHPs glicosiladas em outros trabalhos (DONDONI, MASSI, MINGHINI, 2002). Assim, foi testada a reação térmica utilizando peneira molecular a 70 °C sem catalisador (entrada 1). Nestas condições a DHP **125** foi produzida num baixo rendimento de apenas 15%. Piores resultados foram obtidos utilizando microondas ou realizando a reação à temperatura ambiente (entradas 2 e 3). A seguir a reação foi testada utilizando triflato de itérbio **126** e L-prolina **43**, dois catalisadores utilizados com sucesso na síntese de DHPs (entradas 4 e 5) (WANG *et al.*, 2005; KUMAR; MAURYA, 2007). L-Prolina foi mais eficiente na catálise da reação que **126** em termos de rendimento e pureza estereoquímica de **125**. O uso do catalisador metálico forneceu menores rendimentos além de produzir pequenas quantidades do epímero **epi-125**.

É importante esclarecer que o epímero **epi-125** foi isolado com um baixo grau de pureza através de cromatografia em sílica, aproximadamente 70% conforme determinado por análise de ¹H NMR. A caracterização de **epi-125** foi feita através de RMN e ESIMS (anexo, p. A42). As quantidades de **epi-125** relatada na Tabela 7 referem-se a uma estimativa realizada através de análises de RMN ¹H das misturas reacionais. A identificação do duplo duplete em 4,25 ppm correspondente a H-3' foi utilizada para identificar a presença de **epi-125** na mistura reacional e consequentemente, avaliar quando aconteceu epimerização nas condições testadas.

O aumento da quantidade catalítica de **43** para 0,3 e 1,0 equivalente não melhoraram significativamente o rendimento da reação (entradas 5-7). A troca de solventes produziu a DHP alvo **125** em menores rendimentos, provavelmente devido a menor solubilidade do catalisador nestes solventes (entradas 8-10). Uma quantidade significativa de **epi-125** (10%) foi formada utilizando CH₂Cl₂ como solvente (entrada 9). Neste estágio, a reação foi realizada na ausência de peneira molecular e a diferentes temperaturas (entrada 11-13). O leve aumento no rendimento de **125** na reação realizada sem peneira molecular (entrada 11 vs 5) pode ser explicada com base no conhecido mecanismo das reações aldólicas catalisadas pela L-prolina (LIST, HANG, MARTIN, 2004). Uma hidrólise é necessária

no último passo de catálise para liberar o catalisador e o produto (Ver Esquema 7, p.23). Um aumento na temperatura de reação para 40 ou 50 °C melhorou os rendimentos (entradas 12 e 13). Entretanto, a 50 °C houve uma pequena produção de **epi-125**. Ainda, um aumento no tempo de reação a temperatura ambiente melhorou o rendimento da DHP alvo **125** (entrada 14).

TABELA 7 – OTIMIZAÇÃO DAS CONDIÇÕES DE SÍNTESE DAS DHPs



Entrada	Solvente	T (°C)	Tempo (h)	Catalisador (equiv)	Rend. [%] 125 ^b / epi-125 ^c
1 ^a	MeOH	70	48	-	15 / -
2 ^a	MeOH	110 (M.O. ^f)	1.5	-	<5 / -
3 ^a	MeOH	25	48	-	<5 / -
4 ^a	MeOH	25	48	126 (1.0)	20 / 5
5 ^a	MeOH	25	48	43 (0.1)	35 / -
6 ^a	MeOH	25	48	43 (0.3)	35 / -
7 ^a	MeOH	25	48	43 (1.0)	37 / -
8 ^a	THF	25	48	43 (0.1)	5 / -
9 ^a	CH ₂ Cl ₂	25	48	43 (0.1)	10 / 10
10 ^a	Benzeno	25	48	43 (0.1)	5 / -
11 ^d	MeOH	25	48	43 (0.1)	39 / -
12 ^d	MeOH	40	48	43 (0.1)	42 / -
13 ^d	MeOH	50	48	43 (0.1)	50 / 5
14 ^d	MeOH	25	168	43 (0.1)	50 / -
15 ^{d,e}	MeOH	25	48	43 (0.1)	48 / -
16 ^{d,e}	MeOH	25	48	46 (0.1)	40 / -
17 ^{d,e}	MeOH	25	48	45 (0.1)	44 / -
18 ^{d,e}	MeOH	50	48	43 (0.1)	55 / -
19 ^{d,e}	MeOH	110 (M.O. ^f)	2	43 (0.1)	35 / 5

^a Reações realizadas com **96** (0.14 mmol), **123** (1.0 equiv) e **124** (1.0 equiv) em 0,7 mL de solvente na presença de peneira molecular 4A.

^b Rendimento calculado através de purificação por cromatografia em gel de sílica.

^c Rendimento estimado por RMN de ¹H.

^d Reações realizadas sem peneira molecular.

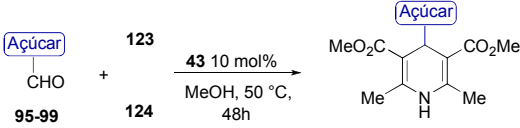
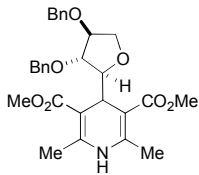
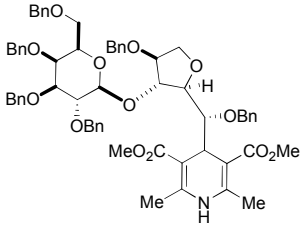
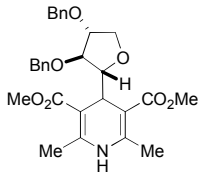
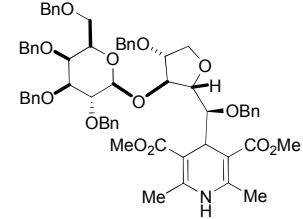
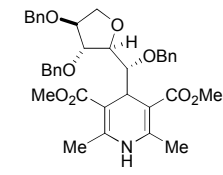
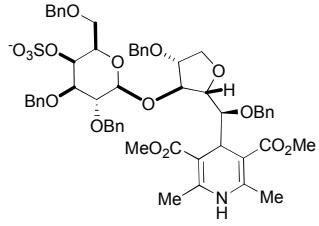
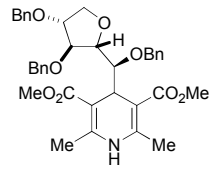
^e Reações realizadas com 1.5 equiv. de **123** e **124**.

^f M.O. = microondas

A reação foi testada mudando a quantidade inicial dos substratos **123** e **124** para 1,5 equivalentes (entrada 15). Nestas condições o rendimento aumentou consideravelmente de 39 para 48%. Foi investigada também se a mudança do organocatalisador **43** poderia melhorar o rendimento da reação. Foram utilizados os derivados da prolina (S)-5-pirrolidin-2-il-1H-tetrazol **46** e (S) pirrodinilmetil-pirrolidina/TFA **45** (entradas 16 e 17). Os organocatalisadores testados possuem uma acentuada diferença no pKa da função ácida. L-Prolina **43** forneceu o maior rendimento. O melhor resultado na otimização da reação foi obtido utilizando um excesso dos substratos **123** e **124** na ausência de peneira molecular a 50 °C (entrada 18). Nestas condições a DHP **125** foi isolada com 55% de rendimento. A tentativa de reduzir o tempo de reação utilizando microondas (110 °C, 2 h) falhou pois a DHP **125** foi isolada em baixo rendimento junto com seu epímero **epi-125** (entrada 19).

A melhor condição encontrada (Tabela 7, entrada 18) foi aplicada para os demais BB. Na Tabela 8 pode-se observar as DHPs glicosiladas produzidas. O BB C-formil aldeído **97** e **ent-97** forneceu os melhores rendimentos (entrada 1 e 2). As DHPs **127** e **ent-127** são C-nucleosídeos enantiômeros contendo uma unidade de treofuranose ligada em C-4 do anel DHP. Além da potencial atividade biológica relatada as DHPs e C-nucleosídeos, os compostos **127** e **ent-127** podem ser utilizados para gerar seqüências de TNA modificada. Com o aumento na complexidade estrutural dos BB observou-se uma diminuição do rendimento das DHPs glicosiladas produzidas. Utilizando os dissacarídeos BB como substrato, as DHPs **128** e **129** foram isoladas em 37 e 36% de rendimento (entrada 5 e 6). Utilizando o substrato **99** foi sintetizada a primeira DHP glicosilada e sulfatada **130** através de uma reação de multicomponentes organocatalisada (entrada 7).

TABELA 8 – SÍNTESE DAS DHPs GLICOSILADAS UTILIZANDO OS BB OBTIDOS DE AGAROSE E *KAPPA*-CARRAGENANA

					
Entrada ^a	aldeído	Produto (Rend.) ^b	Entrada ^a	aldeído	Produto (Rend.) ^b
1	97	 127 (67%)	5	95	 128 (37%)
2	ent-97	 ent-127 (68%)	6	98	 129 (36%)
3	96	 125 (55%)	7	99	 130 (28%)
4	ent-96	 ent-125 (52%)			

^a Reações realizadas com 0.14 mmol de aldeído, **123** (1.5 equiv) e **124** (1.5 equiv) em 0,7 mL of MeOH.

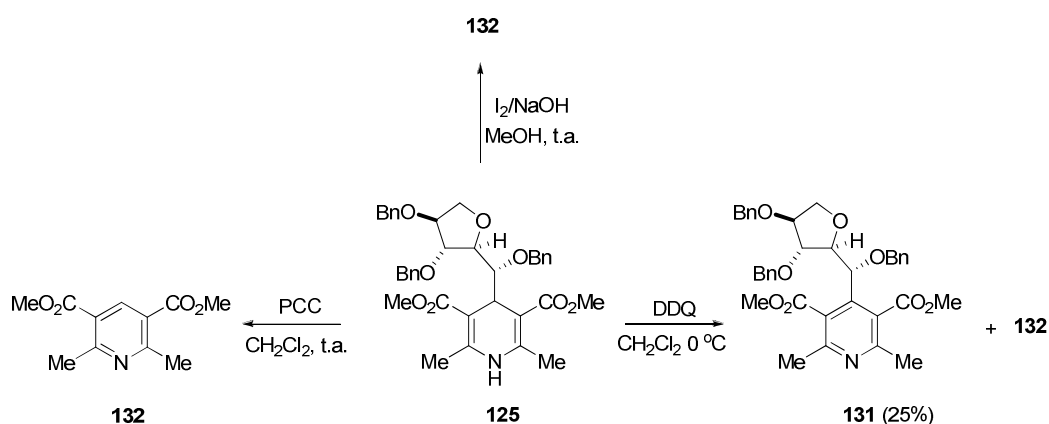
^b Rendimento calculado através de purificação por cromatografia em gel de sílica.

As DHPs apresentam um potencial uso em reações assimétricas de transferência de íons hidreto (OUELLET; WALJI; MACMILLAN, 2007). Além disso, alguns estudos tem mostrado que a piridina resultante da oxidação do anel DHP apresenta atividades biológicas, tais como antagonista do receptor adenosina A₃ e

do receptor de liberação de corticotropina (LI *et al.*, 1998; CHEN *et al.*, 2008). O derivado piridina é ainda mais estável quimicamente que a DHP correspondente.

A perda do substituinte em C-4 do anel DHP durante a oxidação é bem conhecida (EYNDE, MAYENCE, 2003). Assim, a DHP **125** foi submetida a testes de oxidação para produção do seu correspondente derivado piridina glicosilado **131**. Foram testadas condições para avaliar se o resíduo glicídico seria perdido durante a oxidação. Dessa forma, as DHPs glicosiladas produzidas (Tabela 8) poderiam gerar novos compostos com potencial atividade biológica.

O agente oxidante clorocromato de piridínio (PCC) foi utilizado para oxidação de **125** em CH_2Cl_2 (DONDONI, MASSI, ALDHOUN, 2007). A análise de RMN de ^1H (anexo, p. A49) da mistura reacional indicou apenas a presença da piridina **132** (Esquema 28). A utilização de I_2/NaOH na oxidação de DHPs também produziu apenas a piridina **132** (anexo, p. A50) (YADAV *et al.*, 2000).



ESQUEMA 28 – OXIDAÇÃO DA DHP **125**

Eynde *et al.* (1995) relataram a utilização de 2,3-dicloro-5,6-diciano-1,4 benzoquinona (DDQ) na oxidação de DHPs sem observar perda do substituinte em C-4. Assim, DDQ foi utilizada na oxidação de **125** em CH_2Cl_2 para fornecer a piridina alvo **131** em 25% de rendimento após coluna de cromatografia em gel de sílica. Entretanto, a análise da mistura reacional mostrou que a piridina **132** foi produzida

em maior quantidade, cerca de 60% conforme indicou a análise de RMN ^1H (anexo, p. A51).

As reações de oxidações testadas não produziram o derivado piridina glicosilado com bons rendimentos. Entretanto, é possível estender o número de compostos com potencial atividade biológica através da oxidação com DDQ em CH_2Cl_2 .

4.8 SÍNTESE DE DIHIDROPIRIDINAS GLICOSILADAS ASSIMÉTRICAS ATRAVÉS DA REAÇÃO DE MULTICOMPONENTES DE HANTZSCH

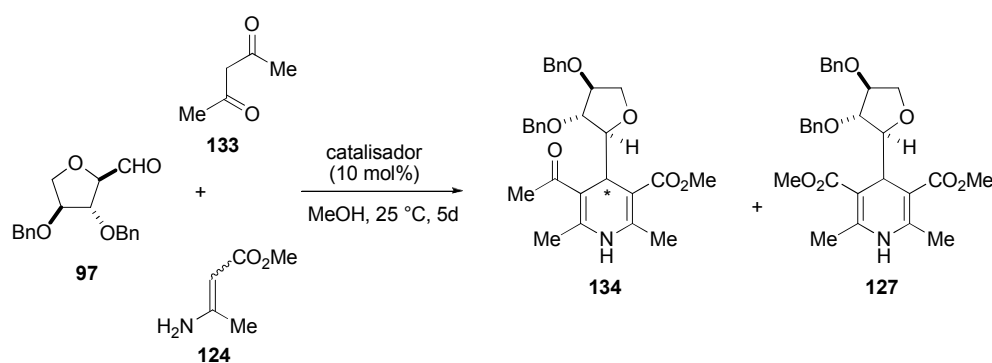
As DHPs assimétricas possuem importantes propriedades biológicas. Frequentemente, apenas um dos enantiômeros apresenta a atividade biológica esperada, enquanto o outro não apresenta ou possui atividade oposta (MINGHINI, 2003). A semi-síntese de BB glicídicos enantiômeros abriu a possibilidade de estudar a indução assimétrica em C-4 do anel DHP. Como a reação otimizada neste trabalho é organocatalisada pela L-prolina, foi avaliada a influência de indutores quirais internos (açúcar) e externos (catalisador).

O BB aldeído **97** a enamina **124** e a 2,4-pentanodiona **133** foram utilizadas na RMC de Hantzsch em MeOH a temperatura ambiente por 5 dias na presença de peneira molecular (Tabela 9). A presença da peneira molecular foi necessária para diminuir a formação do β -cetoéster **123** a partir da hidrólise da enamina **124**, uma vez que a condensação de **123**, **124** e o aldeído **97** levaria a formação da DHP simétrica **127**. Foram utilizados como catalisador a D- *ent*-**43** e L-prolina **43** além da pirrolidina/AcOH **135**, este último um organocatalisador aquiral.

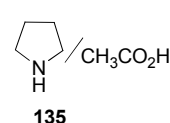
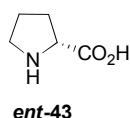
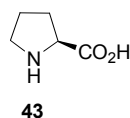
A reação utilizando **43** como catalisador produziu a DHP assimétrica **134** e simétrica **127** numa relação de 5:1 (Tabela 9, entrada 1). O rendimento foi estimado através de RMN de ^1H em aproximadamente 50% para **134** e 10% para **127** (anexo, p. A52). A separação da mistura contendo as duas DHPs glicosiladas foi alcançada através de CCD preparativa em isopropil éter e acetonitrila 15:1. A análise de RMN

de ^1H em benzeno- d_6 indicou a presença de uma única DHP assimétrica **134**. O excesso diastereoisomérico foi excelente (>95%). O valor de rotação ótica $[\alpha]_D$ para este composto foi de + 31,3 (c 0,5, CHCl_3). Utilizando D-prolina **ent-43** como catalisador a mesma (mas ainda desconhecida) configuração estereoquímica em C-4 do anel DHP de **134** foi obtida, conforme indicaram as análises de RMN de ^1H e de rotação ótica (entrada 2). Estes dados indicaram que o organocatalisador não exerceu nenhuma influência na indução assimétrica. A reação catalisada pelo catalisador aquiral **135** forneceu a mesma DHP **134** (entrada 3) com excelente excesso diastereoisomérico.

TABELA 9 – ESTUDO DE INDUÇÃO ASSIMÉTRICA NA SÍNTESE DE DHP COM BB **97** E **ent-97**



Catalisadores



Entrada	aldeído	Catalisador	Produto	Rend. (%) ^b	de ^c (%) ^d
1	97	43	134	50	>95
2	97	ent-43	134	48	>95
3	97	135	134	50	>95
4	ent-97	43	ent-134	47	>95

^a Reações realizadas com aldeído (0,14 mmol), **124** (1,5 equiv) and **133** (1,5 equiv) em 0,7 mL de solvente na presença de *molecular sieves* 4 Å.

^b Rendimento obtido por cromatografia em coluna de sílica gel e RMN de ^1H .

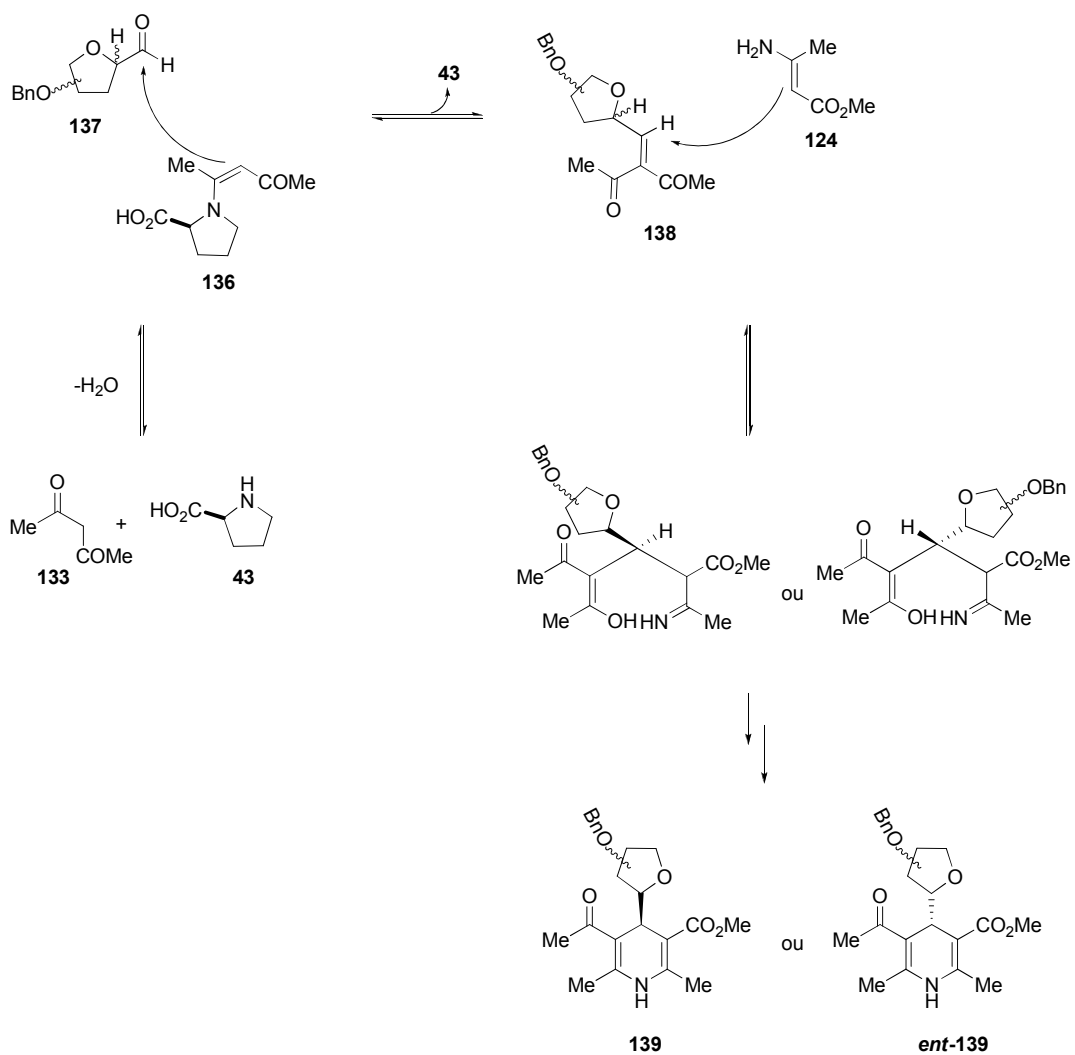
^c Excesso diastereoisomérico

^d Estimado por RMN de ^1H .

A utilização do BB **ent-97** na reação catalisada por **43** produziu a DHP **ent-134** conforme indicaram as análises de RMN de ^1H e de rotação ótica (entrada 4). O valor de $[\alpha]_{\text{D}}$ para **ent-134** foi de - 31.1. Este resultado confirmou o açúcar como principal indutor assimétrico da reação.

Uma hipótese mecanística é mostrada no Esquema 29. O organocatalisador **43** ativaria a 2,4-pentanodiona **133** levando a formação do nucleófilo enamina **136** que atacaria o aldeído **137**. Após a perda de uma molécula de água, uma única enona de Knoevenagel **138** se formaria. A presença da unidade glicídica induziria o ataque da enamina **124** apenas por uma das faces do carbono sp^2 da enona **138**. A troca do açúcar de **138** pelo seu enantiômero induziria o ataque pela face contrária. Como resultado apenas uma das DHPs **139** seria produzida.

Os resultados de indução obtidos utilizando os BB **97** e **ent-97** na síntese de DHPs assimétricas, mostraram uma nova aplicabilidade para os BB aldeídos produzidos a partir da Agarose e *Kappa*-carragenana como auxiliares de indução em síntese assimétrica.



ESQUEMA 29 – MECANISMO PROPOSTO NA SÍNTESE DE DHP ASSIMÉTRICA

5. CONCLUSÕES

A hidrólise com TFA 0,1 M a 65 °C produziu a quebra seletiva das ligações glicosídicas envolvendo as unidades de 3,6-anidro-galactose de duas galactanas de interesse comercial. Da Agarose **3** foram obtidos os dissacarídeos agarobiose **82** e agarotetraose **83**, enquanto que da *Kappa*-carragenana **4** foram obtidos a κ -carrabiose **84** e κ -carratetraose **85**. Todos os oligossacarídeos apresentam a unidade de 3,6-anidro-galactose na forma de aldeído hidratado no terminal redutor.

Os oligossacarídeos **82** e **83** foram utilizados no desenvolvimento de um método analítico que permitiu a separação de agaro-oligossacarídeos através de CLAE. A metodologia foi utilizada para estimar a quantidade de di- e tetrassacarídeos produzidos na hidrólise ácida parcial da Agarose **3** em diferentes tempos.

Neste trabalho a Lactose **87**, κ -carrabiose **84** e oligossacarídeos com diferente graus de polimerização **94** obtidos de *Kappa*-carragenana foram utilizados na síntese e semi-síntese de *N*-alquil glicosídeos através de aminação redutiva com aminas alifáticas (5, 7, 9, 12 e 14 carbonos). Bons rendimentos foram obtidos realizando as reações em tampão borato pH 8,2 (MeOH/H₂O).

Agarose **3** e *Kappa*-carragenana **4** foram também utilizados na semi-síntese de C-glicosídeos aldeídos BB, protegidos por grupos benzílicos, e apresentando unidades C-glicosídica de D- ou L-treofuranose derivada da 3,6-anidro-galactose. No total, foram sintetizados três BB dissacarídeos **95**, **98**, **99** e quatro monossacarídeos **96**, *ent*-**96**, **97** e *ent*-**97**. O BB **97** foi utilizado na síntese da L-treose dibenzilada **122** que pode ser usada na síntese de nucleotídeos utilizados na construção de TNA.

Os BB glicídicos produzidos foram utilizados na síntese de C-dihidropiridinas através da reação de multicomponentes de Hantzsch. A melhor condição encontrada utilizou o aminoácido L-prolina **43** como catalisador. Esta reação de multicomponentes organocatalisada permitiu a síntese de C-nucleosídeos da treofuranose **127** e *ent*-**127** em ambas as formas enantioméricas D- e L-. Através desta reação foi possível utilizar o BB **99** e sintetizar uma DHP contendo um grupo sulfato **130**.

A utilização dos BB **97** e **ent-97** na síntese de DHP assimétricas através da reação de multicomponentes de Hantzsch indicou que a unidade glicídica é a principal responsável pelo excelente excesso diastereoisomérico observado no estereocentro formado em C-4 do anel DHP.

Este trabalho produziu oligossacarídeos e derivados de interesse no campo farmacológico, bioquímico e químico a partir de polissacarídeos produzidos por algas vermelhas.

6. REFERÊNCIAS

- ADAMS, Y.; SMITH, S.L. Carrageenans inhibit the in vitro growth of *Plasmodium falciparum* and cytoadhesion to CD36. **Parasitol. Res.**, v. 97, p. 290-294, 2005.
- AHRENDT, K. A.; BORTHS, C. J.; MACMILLAN, D. W. C. New strategies for organic catalysis: the first highly enantioselective organocatalytic Diels-Alder reaction. **J. Am. Chem. Soc.**, v. 122, p. 4243-4244.
- ARAKI, C.; HIRASE, S. Studies on the chemical constitution of agar-agar. XV. Exhaustive mercaptolyses of agar-agar. **Bull. Chem. Soc. Jap.**, v. 26, p. 463-467, 1953.
- BALKENHOHL, F.; *et al.* Combinatorial synthesis of small organic molecules. **Angew. Chem. Int. Ed.**, v. 35, p. 2288-2337, 1996.
- BEAU, J-M.; GALLAGHER, T. Nucleophilic C-glycosyl donors for C-glycoside synthesis. **Topics Curr. Chem.**, v. 187, p. 1-54, 1997.
- BERTOZZI, C. R.; HOEPRICH, P. D.; BEDNARSKI, M. D. Synthesis of carbon-linked glycopeptides as stable glycopeptide models. **J. Org. Chem.**, v. 57, p. 6093-6094, 1992.
- BIENAYMÉ, H.; *et al.* Maximizing synthetic efficiency: Multicomponent transformations lead the way. **Chem. Eur. J.**, v. 6, p. 3321-3329, 2000.
- BIGINELLI, P. Aldehyde-urea derivatives o faceto and oxaloacetic acids. **Gazz. Chim. Ital.**, v. 23, p. 360-413, 1893.
- BOSSERT, F.; VATER, W. Dihydropyridine eine neue gruppe stark wirksamer coronartherapeutika. **Naturwissenschaften**, v. 58, p. 578, 1971.
- BOUZIDE, A.; SAUVÉ, G. Regioselective deprotection of p-methoxybenzyl ethers of furanose derivatives. **Tetrahedron Lett.**, v 40, p. 2883-2886, 1999.
- BOYSEN, M. M. K. Carbohydrates as synthetic tools in organic chemistry. **Chem. Eur. J.**, v. 13, p. 8648-8659, 2007.
- BRIDGWOOD, K. L.; VEITCH, G. E.; LEY, S. V. Magnesium nitride as a convenient source of ammonia: preparation of dihydropyridines. **Org. Lett.**, v. 16, p. 3627-3629, 2008.
- BÜLOW, H. E.; HOBERT, O. The molecular diversity of glycosaminoglycans shapes animal development. **Annu. Rev. Cell Dev. Biol.**, v. 22, p. 375-407, 2006.
- CAO, Y.; OKADA, Y.; YAMADA, H. Facile and regioselective preparation of partly O-benzylated d-glucopyranose acetates via acid-mediated simultaneous debenzylation-acetolysis. **Carbohydr. Res.**, v. 341, p. 2219-2223, 2006.

CENTRONE, C. A.; LOWARY, T. L. Synthesis and antituberculosis activity of C-phosphonate analogues of decaprenolphosphoarabinose, a key intermediate in the biosynthesis of mycobacterial arabinogalactan and lipoarabinomannan. **J. Org. Chem.**, v. 67, p. 8862-8870, 2002.

CHAPUT, J. C.; SZOSTAK, J. W. TNA synthesis by DNA polymerases. **J. Am. Chem. Soc.**, v. 125, p. 9274-9275, 2003.

CHEN, H.; *et al.* Depolymerized products of λ -carrageenan as a potent angiogenesis inhibitor. **J. Agric. Food Chem.**, v. 55, p. 6910-6917, 2007.

CHEN, H-M.; *et al.* Product monitoring and quantitation of oligosaccharides composition in agar hydrolysates by precolumn labeling HPLC. **Talanta**, v. 64, p. 773-777, 2004.

CHEN, H-M.; YAN, X-J. Antioxidant activities of agaro-oligosaccharides with different degrees of polymerization in cell-based system. **Biochim. Biophys. Acta**, v. 1722, p. 103-111, 2005.

CHEN, Y. L.; *et al.* Synthesis and SAR of 2-aryloxy-4-alkoxy-pyridines as potent orally active corticotropin-releasing factor 1 receptor antagonists. **J. Med. Chem.**, v. 51, p. 1377-1384, 2008.

COBUM, R. A. *et al.* 1,4-Dihydropyridine antagonist activities at the calcium channel: a quantitative structure-activity relationship approach. **J. Med. Chem.**, v. 31, p. 2103-2107, 1988.

COOPER, K.; *et al.* 1,4-Dihydropyridines as antagonists of platelet activating factor 1: synthesis and structure-activity relationship of 2-(4-heterocyclyl)-phenyl derivatives. **J. Med. Chem.**, v. 35, p. 3115-3129, 1992.

CRAIGIE, J. S. *Cell walls*. In: COLE, K. M.; SHEATH, R. G. (Eds.). **Biology of the red algae**. Nova York: Cambridge University Press, 1990. p. 221-257.

De RUITER, G. A.; RUDOLPH, B. Carrageenan biotechnology. **Trends Food Sci. Technol.**, v. 8, p. 389-395, 1997.

DIÉGUEZ, M.; CLAVER, C.; PÀMIES, O. Recent progress in asymmetric catalysis using chiral carbohydrate-based ligands. **Eur. J. Org. Chem.**, p. 4621-4634, 2007.

DIEKMANN, A. B. Glycoconjugates in sperm function and gamete interactions: how much sugar does it take to sweet-talk the egg? **Cell. Mol. Life Sci.**, v. 60, p. 298-308, 2003.

DODGSON, K. S. Determination of inorganic sulphate in studies on the enzymic and non-enzymic hydrolysis of carbohydrate and other sulphate esters. **Biochem. J.**, v. 78, p. 312-319, 1961.

DÖMLING, A. Recent developments in isocyanide based multicomponent reactions in applied chemistry. **Chem. Rev.**, v. 106, p. 17-89, 2006.

DÖMLING, A.; UGI, I. Multicomponent reactions with isocyanides. **Angew. Chem. Int. Ed.**, v. 39, p. 3168-3210, 2000.

DONDONI, A. Formylation of carbohydrates and the evolution of synthetic routes to artificial oligosaccharides and glycoconjugates. **Pure. Appl. Chem.**, v. 72, p. 1577-1588, 2000.

DONDONI, A.; *et al.* Multicomponent Hantzsch cyclocondensation as a route to highly functionalized 2- and 4-dihydropyridylalanines, 2- and 4-pyridylalanines and their N-Oxides: preparation via a polymer-assisted solution-phase approach. **Tetrahedron**, v. 60, p. 2311-2326, 2004.

DONDONI, A.; MARRA, A. Methods for anomeric carbon-linked and fused sugar amino acid synthesis: the gateway to artificial glycopeptides. **Chem. Rev.**, v. 100, p. 4395-4421, 2000.

DONDONI, A.; MASSI, A. Asymmetric organocatalysis: from infancy to adolescence. **Angew. Chem. Int. Ed.**, v. 47, p. 4638-4660, 2008.

DONDONI, A.; MASSI, A. Design and synthesis of new classes of heterocyclic C-glycoconjugates and carbon-linked sugar and heterocyclic amino acids by asymmetric multicomponent reactions (AMCRs). **Acc. Chem. Res.**, v. 39, p. 451-463, 2006.

DONDONI, A.; MASSI, A.; ALDHOUN, M. Hantzsch-type three component approach to a new family of carbon linked glycosyl amino acids. Synthesis of C-Glycosylmethyl pyridylalanines. **J. Org. Chem.**, v. 72, p. 7677-7687, 2007.

DONDONI, A.; MASSI, A.; MINGHINI, E. Two- and three-component Hantzsch reaction using C-glycosylated reagents. Approach to the asymmetric synthesis of 1,4-dihydropyridines. **Synlett**, p. 89-92, 2002.

DONDONI, A.; SCHERMANN, M-C. Thiazole-based synthesis of formyl C-glycosides. **J. Org. Chem.**, v. 59, p. 6404-6412, 1994.

DONDONI, *et al.* Dihydropyridine C-glycoconjugates by Hantzsch cyclocondensation. Synthesis of a C(6)-glycosylated nifedipine analogue. **Helv. Chim. Acta**, v. 85, p. 3331-3348, 2002.

DONKOR, I. O. *et al.* Synthesis and radioprotective effects of adamantly substituted 1,4-dihydropyridine derivatives. **Bioorg. Med. Chem.**, v. 6, p. 563-568, 1998.

DU, Y.; LINHARDT, R. J.; VLAHOV, I. R. Recent advances in stereoselective C-glycoside synthesis. **Tetrahedron**, v. 54, p. 9913-9959, 1998.

DUARTE, M.E.R. *et al.* The structure of the agaran sulfate from *Acanthophora spicifera* (Rhodomelaceae, Ceramiales) and its antiviral activity in agarans. **Carbohydr. Res.**, v. 339, p. 335-347, 2004.

DUBOIS M. K.; et al. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Anal. Chem.**, v. 28, p. 350-356, 1956.

EDER, U.; SAUER, G.; WIECHERT, R. New type of asymmetric cyclization to optically active steroid CD partial structures. **Angew. Chem. Int. Ed.**, v. 10, p. 496-497, 1971.

ENDERS, D.; GRONDAL, C. Direct organocatalytic de novo synthesis of carbohydrates. **Angew. Chem. Int. Ed.**, v. 44, p. 1210-1212, 2005.

ENOKI, T.; et al. **Agarobiose-containing composition**. US7217817, Mai. 15, 2007.

ENOKI, T.; et al. **Method of screening physiologically active substance**. US0081618A1, Abr. 29, 2004.

ERKKILA, A.; MAJANDER, I.; PIHKO, P. M. Iminium catalysis. **Chem. Rev.**, v. 107, p. 5416-5470, 2007.

ESTEVEZ, J. M.; CIANCIA, M.; CEREZO, A. S. The system of galactans of the red seaweed *Kappahycus alvarezii* with emphasis on its minor constituents. **Carbohydr. Res.**, v. 339, p. 2575-2592, 2004.

EYNDE, J. J. V.; et al. Old reagents, new results: aromatization of hantzsch 1,4-dihydropyridines with manganese dioxide and 2,3-dichloro-5,6-dicyano-1,4-benzoquinone. **Tetrahedron**, v. 51, p. 6511-6516, 1995.

EYNDE, J. J. V.; MAYENCE, A. Synthesis and aromatization of Hantzsch 1,4-dihydropyridines under microwave irradiation. An overview. **Molecules**, v. 8, p. 381-391, 2003.

FUSTER, M. M.; ESKO, J. D. The sweet and sour of cancer: glycans as novel therapeutic targets. **Nat. Rev. Cancer**, v. 5, p. 526-542, 2005.

GARELLI-CALVET, R.; LATGÉ, P.; RICO, I.; LATTES, A.; PUGET, A. A new surfactant series, the N-alkylamino-1-deoxylactitols: application for extraction of 'op' opiate receptors from frog brain. **Biochim. Biophys. Acta**, v. 1109, p. 55-58, 1992.

GONÇALVES, A. G. **Modificações químicas em oligossacarídeos derivados de polissacarídeos de algas marinhas**. 162 f. Tese (Doutorado em Ciências – Bioquímica) – Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2005.

GONÇALVES, A. G.; et al. Positional isomers of sulfated oligosaccharides obtained from agarans and carrageenans: preparation and capillary electrophoresis separation. **Carbohydr. Res.**, v. 340, p. 2123-2134, 2005.

GONÇALVES, A. G.; et al. Semisynthesis of long-chain alkyl ether derivatives of sulfated oligosaccharides via dibutylstannylene acetal intermediates. **J. Org. Chem.**, v. 72, p. 9896-9904, 2007.

GONG, L-Z.; CHEN, X-H.; XU, X-Y. Asymmetric organocatalytic Biginelli reactions: a new approach to quickly access optically active 3,4-dihydropyrimidin-2-(1H)-ones. **Chem. Eur. J.**, v. 13, p. 8920-8926, 2007.

GUERRINI, M.; *et al.* Minimal heparin/heparin sulfate sequences for binding to fibroblast growth factor-1. **Biochem Biophys. Res. Commun.**, v. 292, p. 222-230, 2002.

GUIBET, M.; *et al.* Complete assignment of ^1H and ^{13}C NMR spectra of *Gigartina skottsbergii* λ -carrageenan using carrabiose oligosaccharides prepared by enzymatic hydrolysis. **Carbohydr. Res.**, v. 341, p. 1859-1869, 2006.

GUTOWSKI, G. E.; *et al.* Pyrazomycin B: isolation and characterization of an α -C-nucleoside antibiotic related to pyrazomycin. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, v. 51, p. 312-317, 1973.

HAIJIN, M.; XIAOLU, J.; HUASHI, G. A κ -carrageenan derived oligosaccharide prepared by enzymatic degradation containing anti-tumor activity. **J. Appl. Phycol.**, v. 15, p. 297-303, 2003.

HAJOS, Z. G.; PARRISH, D. R. Asymmetric synthesis of bicyclic intermediates of natural product chemistry. **J. Org. Chem.**, v. 39, p. 1615-1621, 1974.

HAMA, Y.; *et al.* Anhydrous mercaptolysis of agar: na efficient preparation of 3,6-anhydro-L-galactose diethyldithioacetal. **Carbohydr. Res.**, v. 318, p. 154-156, 1999.

HANESSIAN, S.; PERNET, A. G. Synthesis of naturally occurring c-nucleosides, their analogs, and functionalized c-glycosyl precursors. **Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.**, v. 33, p. 111-188, 1976.

HANTZSCH, A. R. Ueber die synthese pyridinartiger verbindungen aus acetessigather und aldehydammoniak. **Justus Liebigs Ann. Chem.**, v. 215, p. 1-82, 1882.

HILDBRAND, S.; *et al.* 5-Substituted 2-aminopyridine C-nucleosides as protonated cytidine equivalents: increasing efficiency and selectivity in DNA triple-helix formation. **J. Am. Chem. Soc.**, v. 119, p. 5499-5511, 1997.

HILGEROTH, A.; LILIE, H. Structure-activity relationships of first bishydroxymethyl-substituted cage dimeric 4-aryl-1,4-dihydropyridines as HIV-1 protease inhibitors. **Eur. J. Med. Chem.**, v. 38, p. 495-499, 2003.

HIRASE, S.; ARAKI, C. Studies on the chemical constitution of agar-agar. XVI. Isolation of crystalline agarobiose diethylmercptal by mercaptolysis of agar-agar. **Bull. Chem. Soc. Jap.**, v. 27, p. 105-109, 1954.

HOAGLAND, P. D.; PFEFFER, P. E. VALENTINE, K. M. Reductive amination of lactose: unusual ^{13}C NMR spectroscopic properties of N-alkyl-(1-deoxylactitol-1yl) amines. **Carbohydr. Res.**, v. 74, p. 135-143, 1979.

HOSOYA, M.; *et al.* differential inhibitory effects of sulfated polysaccharides and polymers on the replication of various myxoviruses and retroviruses, depending on the composition of the target amino acid sequences of the viral envelope glycoproteins. **Antimicrob. Agents Chemother.**, v. 35, p. 2515-2520, 1991.

HURD, C. D.; BONNER, W. A. The glycosylation of hydrocarbons by means of the Grignard reagent. **J. Am. Chem. Soc.**, v. 67, p. 1972-1977, 1945.

JIANG, J.-L. *et al.* Chiral resolution and stereospecificity of 6-phenyl-4-phenylethynyl-1,4-dihydropyridines as selective A₃ adenosine receptor antagonists. **J. Med. Chem.**, v. 42, p. 3055-3065, 1999.

JOYCE, G. F. The antiquity of RNA-based evolution. **Nature**, v. 418, p. 214-221, 2002.

KÄSBAUER, C. W.; PAPER, D. H.; FRANZ, G. Sulfated β -(1 \rightarrow 4)-galacto-oligosaccharides and their effect on angiogenesis. **Carbohydr. Res.**, v. 330, p. 427-430, 2001.

KATSURAYA, H.; *et al.* Synthesis of sulfated oligosaccharide glycosides having high anti-HIV activity and the relationship between activity and chemical structure. **Carbohydr. Res.**, v. 315, p. 234-242, 1999.

KAWASE, M.; *et al.* 3,5-Dibenzoyl-1,4-dihydropyridines: synthesis and MDR reversal in tumor cells. **Bioorg. Med. Chem.**, v. 10, p. 1051-1055, 2002.

KAZLOWSKI, B.; PAN, C. L.; KO, Y. T. Separation and quantification of neoagaro- and agaro-oligosaccharide products generated from agarose digestion by β -agarase and HCl in liquid chromatography systems. **Carbohydr. Res.**, v. 343, p. 2443-2450, 2008.

KHAN, A. T.; AHMED, W.; SCHMIDT, R. R. A method for the synthesis of C-(2-deoxy- β -glycosyl) arenes. **Carbohydr. Res.**, v. 280, p. 277-286, 1996.

KHAN, A. T.; MONDAL, E.; SAHY, P. R. A highly efficient procedure for regeneration of carbonyl groups from their corresponding oxathioacetals and dithioacetals using sodium nitrite and acetyl chloride in dichloromethane. **Synlett**, p. 377-381, 2003.

KLUSA, V. Cerebrocrast, neuroprotectant, cognition enhancer. **Drugs. Fut.**, v. 20, p. 135-143, 1995.

KO, S.; *et al.* Molecular iodine-catalyzed one-pot synthesis of 4-substituted-1,4-dihydropyridine derivatives via Hantzsch reaction. **Tetrahedron Lett.**, v. 46, p. 5771-5774, 2005.

KOBAYASHI, E.; *et al.* **Remedies**. US6518302, Feb. 11, 2003.

KOLENDER, A. A.; MATULEWICZ, M. C. Desulfation of sulfated galactans with chlorotrimethylsilane. Characterization of β -carrageenan by ¹H NMR spectroscopy. **Carbohydr. Res.**, v. 339, p. 1619-1629, 2004.

KUMAR, A.; MAURYA, R. A. Synthesis of polyhydroquinoline derivatives through unsymmetric Hantzsch reaction using organocatalysts. **Tetrahedron**, v. 63, p. 1946-1952, 2007.

KUMAR, S.; *et al.* An efficient catalyst- and solvent-free four-component and one-pot synthesis of polyhydroquinolines on grinding. **Tetrahedron**, v. 64, p. 536-542, 2008.

KURSZEWSKA, M.; *et al.* The solvent-free thermal dehydration of hexitols on zeolites. **Carbohydr. Res.**, v. 337, p. 1261-1268, 2002.

KUSAKABE, Y.; *et al.* Minimycin, a new antibiotic. **J. Antibiotics**, v. 25, p. 44-47, 1972.

KUTTERER, K. M. K.; JUST, G. Cyano/diallylamine additions to glycoside and nucleoside aldehydes and its application to the synthesis of polyoxin L and uracil polyoxin C. **Heterocycles**, v. 51, p. 1409-1420, 1999.

LAHAYE, M.; *et al.* ¹³C-nmr spectroscopic investigation of methylated and charged agarose oligosaccharides and polysaccharides. **Carbohydr. Res.**, v. 190, p. 249-265, 1989.

LAI, C. Y.; NAKAI, N.; CHANG, D. Amino acid sequence of rabbit muscle aldolase and the structure of the active center. **Science**, v. 183, p. 1204-1206, 1974.

LEE, J. H. Synthesis of Hantzsch 1,4-dihydropyridines by fermenting baker's yeast. **Tetrahedron Lett.**, v. 46, p. 7329-7330, 2005.

LEEUEWENBURGH, M. A.; *et al.* Stereoselective synthesis of α -C-(alkynyl)-glycosides via ring-opening of α -1,2-anhydrosugars. **Tetrahedron Lett.**, v. 38, p. 6251-6254, 1997.

LETEUX, C.; VEYRIÈRES, A. Synthesis of a C-glycopyranosides of D-galactosamine and D-glucosamine via iodocyclization of corresponding glycols and silver tetrafluoroborane-promoted alkynylation at the anomeric centre. **J. Chem. Soc. Perkin Tran. 1**, p. 2647-2655, 1994.

LEVY-ADAM, F.; *et al.* Identification and characterization of heparin/heparin sulfate binding domains of the endoglycosidase heparanase. **J. Biol. Chem.**, v. 280, p. 20457-20466, 2005.

LEWIS, M. D.; CHA, J. K.; KISHI, Y. Highly stereoselective approaches to α - and β -C-glycopyranosides. **J. Am. Chem. Soc.**, v. 104, p. 4976-4978, 1982.

LI, A-H.; *et al.* Structure-activity relationships and molecular modeling of 3,5-diacyl-2,4-dialkylpyridine derivatives as selective A3 adenosine receptor antagonists. **J. Med. Chem.**, v. 41, p. 3186-3201, 1998.

LIST, B. Direct catalytic asymmetric α -amination of aldehydes. **J. Am. Chem. Soc.**, v. 124, p. 5656-5657, 2002.

LIST, B. Enamine catalysis is a powerful strategy for the catalytic generation and use of carbanion equivalents. **Acc. Chem. Res.**, v. 37, p. 548-557, 2004.

LIST, B. The direct catalytic asymmetric three-component Mannich reaction. **J. Am. Chem. Soc.**, v. 122, p. 9336-9337, 2000.

LIST, B.; HOANG, L.; MARTIN, H. J. New mechanistic studies on the proline catalyzed aldol reaction. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, v. 101, p. 5839-5842, 2004.

LIST, B.; LERNER, R. A.; BARBAS III, C. F. Proline-catalyzed direct asymmetric aldol reactions. **J. Am. Chem. Soc.**, v. 122, p. 2395-2396, 2000.

MAHESWARA, M.; *et al.* A simple and efficient one-pot synthesis of 1,4-dihydropyridines using heterogeneous catalyst under solvent-free conditions. **J. Mol. Cat. A. Chem.**, v. 260, p. 179-180, 2006.

MANNICH, C.; KROSCHE, W. Über ein kondensationsprodukt aus formaldehyd ammoniak und antipyrin. **Arch. Pharm.**, v. 250, p. 647-660, 1912.

MARCO-CONTELLES, J. *et al.* Novel multipotent tacrine-dihydropyridine hybrids with improved acetylcholinesterase inhibitory and neuroprotective activities as potential drugs for the treatment of Alzheimer's disease. **J. Med. Chem.**, v. 49, p. 7607-7610, 2006.

MASSI, A. Critical surveys covering the year 2006. Introduction and transformation of functional groups. In: SEMINARS IN ORGANIC SYNTHESIS, 2007, Milano. **Anais...** Milano: Società Chimica Italiana, 2007, p. 305-328.

MAYER, S.; LIST, B. Asymmetric counteranion-directed catalysis. **Angew. Chem. Int. Ed.**, v. 45, p. 4193-4195, 2006.

MAZUMDER, S.; GHOSAL, P. K.; PUJOL, C. A.; CARLUCCI, M. J.; DAMONTE, E. B.; RAY, B. Isolation, chemical investigation and antiviral activity of polysaccharides from *Gracilaria corticata* (Gracilariaceae, Rhodophyta). **Int. J. Biol. Macromol.**, v. 31, p. 87-95, 2002.

MEYER, H. *et al.* **Pharmaceutical compositions containing unsymmetrical esters of 1,4-dihydropyridine 3,5-dicarboxylic acid.** US 3,932,645, Jan 13, 1976.

MILLER, I. J.; BLUNT, J. W. Desulfation of algal galactans. **Carbohydr. Res.**, v. 309, p. 39-43, 1998.

MILLER, I. J.; WONG, H.; NEWMAN, R. H. A ¹³C n.m.r. study of some disaccharides from algal polysaccharides. **Aust. J. Chem.**, v. 35, p. 853-856, 1982.

MINGHINI, E. **Aspetti moderni della ciclocondensazione di Hanstzsch: sintesi di diidropiridine e loro derivati contenenti unità di carboidrati e di amminoacidi.** 148 f. Tese (Doutorado em Química) – Departamento de Química, Universidade dos estudos de Ferrara, Ferrara, 2003.

MONRAD, R. N.; MADSEN, R. Rhodium-catalyzed decarbonylation of aldoses. **J. Org. Chem.**, v. 72, p. 9782-9785, 2007.

MUKHERJEE, S.; *et al.* Asymmetric enamine catalysis. **Chem. Rev.**, v. 107, p. 5471-5569, 2007.

NAGGI, A.; *et al.* Modulation of the heparanase-inhibiting activity of heparin through selective desulfation, graded N-acetylation, and glycol splitting. **J. Biol. Chem.**, v. 280, p. 12103-12113, 2005.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Lehninger principles of biochemistry**. 3^a. Edição, Worth, New York, 2000.

NICOTRA, F. Synthesis of C-Glycosides of biological interest. **Topics Curr. Chem.**, v. 187, p. 55-83, 1997.

O'NEILL, A. N. 3,6-Anhydro-D-galactose as a constituent of κ -carrageenin. **J. Am. Chem. Soc.**, v. 77, p. 2837-2839, 1955b.

O'NEILL, A. N. Derivatives of 4-O- β -D-galactopyranosyl-3,6-Anhydro-D-galactose from κ -carrageenin. **J. Am. Chem. Soc.**, v. 77, p. 6324-6326, 1955a.

OHBERG, L.; WESTMAN, J. An efficient and fast procedure for the Hantzsch dihydropyridine synthesis under microwave conditions. **Synlett**, p. 1296-1298, 2001.

OHNO, M.; NANG, H. Q.; HIRASE, S. Cultivation and carrageenan yield and quality of *Kappaphycus alvarezii* in the waters of Vietnam. **J. Appl. Phycol.**, v. 8, p. 431-437, 1996.

ORSATO, A. **Síntese de alquilaminoglicosídeos sulfatados potencial atividade antiviral**. 103 f. Dissertação (Mestrado em Ciências – Bioquímica) – Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2007.

OUELLET, S. G.; TUTTLE, J. B.; MACMILLAN, D. W. C. Enantioselective organocatalytic hydride reduction. **J. Am. Chem. Soc.**, v. 127, p. 32-33, 2005.

OUELLET, S. G.; WALJI, A. M.; MACMILLAN, D. W. C. Enantioselective organocatalytic transfer hydrogenation reactions using Hantzsch esters. **Acc. Chem. Res.**, v. 40, p. 1327-1339, 2007.

PAINTER, T. J. The polysaccharides of *Furcellaria fastigata*. Isolation and partial mercaptolysis of a gel-fraction. **Can. J. Chem.**, v. 38, p. 112-118, 1960.

PAINTER, T.J. Algal Polysaccharides. In: ASPINALL, G. (Ed.). **The polysaccharides vol. 2**. Nova York: Academic Press, 1982. p. 195-285.

PALOMO, C.; *et al.* Design and synthesis of a novel class of sugar-peptide hybrids: C-linked glyco β -amino acids through a stereoselective acetate Mannich reaction as the key strategic element. **J. Am. Chem. Soc.**, v. 124, p. 8637-8643, 2002.

PARISH, C. R. The role of heparan sulphate in inflammation. **Nat. Rev. Immunol.**, v. 6, p. 633-643, 2006.

PARKER, K. A.; COBUM, C. A. Reductive aromatization of quinol ketals: a new synthesis of C-aryl glycosides. **J. Am. Chem. Soc.**, v. 113, p. 8516-8518, 1991.

PASSERINI, M. Formation of α -hydroxycarboxamides on treatment of an isonitrile with a carboxylic acid. **Gazz. Chim. Ital.**, v. 51, p. 126-144, 1921.

PATERSON, I.; KEOWN, L. E. Studies in marine macrolide synthesis: Stereocontrolled synthesis of the F-ring subunit of spongistatin 1 (Altohyrtin A). **Tetrahedron Lett.**, v. 38, p. 5727-5730, 1997.

PAULA, E. J.; PEREIRA, R. T. L.; OHNO, M. Strain selection in *Kappaphycus alvarezii* var. *alvarezii* (Soliriaceae, Rhodophyta) using tetraspore progeny. **J. Appl. Phycol.**, v. 11, p. 111-121, 1999.

PENMAN, A.; REES, D. A. Carrageenans. Part XI. Mild oxidative hydrolysis of κ and ι -carrageenans and the characterisation of oligosaccharide sulphates. **J. Chem. Soc.**, v. 19, p. 2191-2196, 1973.

PERCIVAL, E.; McDOWELL, R. H. **Chemistry and enzymology of marine algal polysaccharides**. Londres: Academic Press, 1967.

PERLIN, A. S. D- and L- Threose. Glycol-cleavage of 1,3-O-benzylidene-D- (or L-)-arabinitol. In: WHISTLER, R. L.; WOLFROM, M. M. **Methods in carbohydrate chemistry vol. 1**. Londres: Academic Press, 1962, p. 68-70.

PHILLIPIS, A. P.; RANDALL, L. O. **Quinolines substituted dihidropiridines**. US2359329, Jun 18, 1943.

PONTÉN, F.; MAGNUSSON, G. C-allylation of 1 and 6-bromosugars with allylic sulfides and sulfones. **J. Org. Chem.**, v. 61, 7463-7466, 1996.

RAMÓN, D. J.; YUS, M. Asymmetric multicomponent reactions (AMCRs): The new frontier. **Angew. Chem. Int. Ed.**, v. 44, p. 1602-1634, 2005.

RAVEN, P.H.; EVERT, R.F.; EICHORN, S.E. **Biologia vegetal**, 5^a edição. Rio de Janeiro: Guanabara/Koogan, 1996.

REES, D. A. The carrageenan system of polysaccharides. Part I. The relation between the κ - and λ -components **J. Chem. Soc.**, v. 85, p. 1821-1832, 1963.

REFORMATSKY, S. Neue synthese zweiatomiger einbasicher sauren aus den ketone. **Ber. Dtsch. Chem. Ges.**, v. 20, p. 1210-1211, 1887.

RENN, D. Biotechnology and the red seaweed polysaccharide industry: status, needs and prospects. **Trends Biotechnol.**, v. 15, p. 9-14, 1997.

ROBINSON, R. A synthesis of tropinone. **J. Chem. Soc., Trans.**, v. 111, p. 762-768, 1917.

ROCHAS, C.; POTIN, P.; KLOAREG, B. NMR spectroscopic investigation of agarose oligomers produced by an α -agarase. **Carbohydr. Res.**, v. 253, p. 69-77, 1994.

RUDD, P. M.; *et al.* Glycosylation and the immune system. **Science**, v. 291, p. 2370-2376, 2001.

SAITO, S.; YAMAMOTO, H. Design of acid-base catalysis for the asymmetric direct aldol reaction. **Acc. Chem. Res.**, v. 37, p. 570-579, 2004.

SANDERS, W. J.; *et al.* Inhibition of L-selectin-mediated leukocyte rolling by synthetic glycoprotein mimics. **J. Biol. Chem.**, v. 274, p. 5271-5278, 1999.

SCHONING, K-U.; SCHOLZ, P.; GUNTHA, S.; WU, X.; KRISHNAMURTY, R.; ESCHENMOSER, A. Chemical etiology of nucleic acid structure: the α -threofuranosyl-(3'→2') oligonucleotide system. **Science**, v. 290, p. 1347-1351, 2000.

SCHONING, K-U.; SCHOLZ, P.; WU, X.; GUNTHA, S.; DELGADO, G.; KRISHNAMURTY, R.; ESCHENMOSER, A. The α -threofuranosyl-(3'→2') oligonucleotide system ('TNA'): synthesis and pairing properties. **Helv. Chim. Acta**, v. 85, p. 4111-4153, 2002.

SEAYAD, J.; LIST, B. Asymmetric organocatalysis. **Org. Biomol. Chem.**, v. 3, p. 719-724, 2005.

SEEBERGER, P. H.; WERZ, D. B. Automated synthesis of oligosaccharides as a basis for drug discovery. **Nature Rev. Drug Disc.**, v. 4, p. 751-763, 2005.

SHI, X-X.; KHANAPURE, S. P.; ROKACH, J. Deblocking of dithioacetals and oxathioacetals using periodic acid under mild nonaqueous conditions. **Tetrahedron Lett.**, v. 37, p. 4331-4334, 1996.

SHUKLA, D.; *et al.* A novel role for 3-O-sulfated heparan sulfate in herpes simplex virus 1 entry. **Cell**, v. 99, p. 13-22, 1999.

SOFIA, M. J. Carbohydrate-based combinatorial libraries. **Mol. Diversity**, v. 3, p. 75-94, 1998.

STAUDINGER, H. Zur kenntniss der ketene diphenylketen. **Justus Liebigs Ann. Chem.**, v. 356, p. 51-123, 1907.

STEVENSON, T.T.; FURNEAUX, R.H. Chemical methods for the analysis of sulphated galactans from red algae. **Carbohydr. Res.**, v. 210, p. 277-298, 1991.

STILL, W. C.; KAHN, M.; MITRA, A. Rapid chromatographic technique for preparative separations with moderate resolution. **J. Org. Chem.**, V. 43, p. 2923-2925, 1978.

STRECKER, A. Ueber die kunstliche bildung der milchsaure und einen neuen dem glucocoll homologen korper. **Justus Liebigs Ann. Chem.**, v. 75, p. 27-45, 1850.

SU, W.; *et al.* One-pot synthesis of dihydropyrimidiones catalyzed by strontium (II) triflate under solvent-free conditions. **Tetrahedron Lett.**; v. 46, p. 6037-6040, 2005.

SURI, J. T.; *et al.* Dihydroxyacetone variants in the organocatalytic constructions of carbohydrates: mimicking tagatose and fucose aldolases. **J. Org. Chem.**, v. 71, p. 3822-3828, 2006.

TAKANO, R.; *et al.* Desulfation of sulfated carbohydrates mediated by silylating reagents. **J. Carbohydr. Chem.**, v. 14, p. 885-888, 1995.

TALARICO, L. B. *et al.* The antiviral activity of sulfated polysaccharides against dengue virus is dependent on virus serotype and host cell. **Antivir. Res.**, v. 66, p. 103-110, 2005.

TOSHIMA, K.; *et al.* Environmentally compatible C-glycosidation of glycols using montmorillonite K-10. **Chem. Commun.**, p. 1379-1380, 1996.

UEMURA, D.; *et al.* Structural studies on palytoxin a potent coelenterate toxin. **Tetrahedron Lett.**, v. 21, p. 4857-4860, 1980.

USOV, A. I. NMR spectroscopy of red seaweed polysaccharides: agars, carrageenans and xylans. **Bot. Mar.**, v. 27, p. 189-202, 1984.

USOV, A. I.; ELASHVILI, M.Y. Polysaccharides of algae 44. Investigation of sulfated galactan from *Laurencia nipponica* Yamada (Rhodophyta, Rhodomelaceae), using partial reductive hydrolysis. **Bot. Mar.**, v. 34, p. 553-560, 1991.

UTSUMI, N.; *et al.* Mimicking aldolases through organocatalysis: syn-selective aldol reactions with protected dihydroxyacetone. **Org. Lett.**, v. 9, p. 3445-3448, 2007.

VAN de VELDE, F. *et al.* ^1H and ^{13}C high resolution NMR spectroscopy of carrageenans: application in research and industry. **Trends Food Sci. Technol.**, v. 13, p. 73-92, 2002.

VARKI, A. Biological roles of oligosaccharides: all of the theories are correct **Glycobiology**, v. 3, p. 97-130; 1993.

VILLANUEVA, R. D.; MONTANO, M. N. E. Fine chemicals structure of carrageenan from the commercially cultivated *Kappaphycus striatum* (Sacol variety) (Solieriaceae, Gigartinales, Rhodophyta). **J. Phycol.**, v. 39, p. 513-518, 2003.

VO, D. *et al.* Syntheses, calcium channel agonist-antagonist modulation activities and voltage-clamp studies of isopropyl 1,4-dihydro-2,6-dimethyl-3-nitro-4-pyridinylpyridine-5-carboxylate racemate and enantiomers. **J. Med. Chem.**, v. 38, p. 2851-2859, 1995.

WAGNER, J.; LERNER, R. A.; BARBAS III, C. F. Efficient aldolase catalytic antibodies that use the enamine mechanism of natural enzymes. **Science**, v. 270, p. 1797-1800, 1995.

WALL, D.; *et al.* Characterization of the anticoagulant properties of a range of structurally diverse sulfated oligosaccharides. **Thromb. Res.**, v. 103, p. 325-335, 2001.

WANG, L-M.; *et al.* Facile Yb(OTf)₃ promoted one -pot synthesis of polyhydroquinoline derivatives through Hantzsch reaction. **Tetrahedron**, v. 61, p. 1539-1543, 2005.

WANG, Z.; *et al.* 2,6-Diamino-5,8-diaza-7,9-dicarba-purine. **Org. Lett.**, v. 5, p. 2067-2070, 2003.

YADAV, J. S.; *et al.* Aromatization of Hantzsch 1,4-dihydropyridines with I₂-MeOH. **Synthesis**, p. 1532-1534, 2000.

YOKOYAMA, M.; *et al.* Stereoselective coupling of riboses with metallic salts of aromatic heterocycles. **J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1**, p. 29-34, 1997.

YOUNG, K.S.; BHATTACHARJEE, S. S.; YAPHE, W. Enzymic cleavage of the α -linkages in agarose, to yield agaro-oligosaccharides. **Carbohydr. Res.**, v. 66, p. 207-212, 1978.

YU, G. *et al.* Structural studies on κ -carrageenan derived oligosaccharides. **Carbohydr. Res.**, v. 337, p. 433-440, 2002.

YUAN, H.; *et al.* Immunomodulation and antitumor activity of κ -carrageenan oligosaccharides. **Cancer Lett.**, v. 243, p. 228-234, 2006.

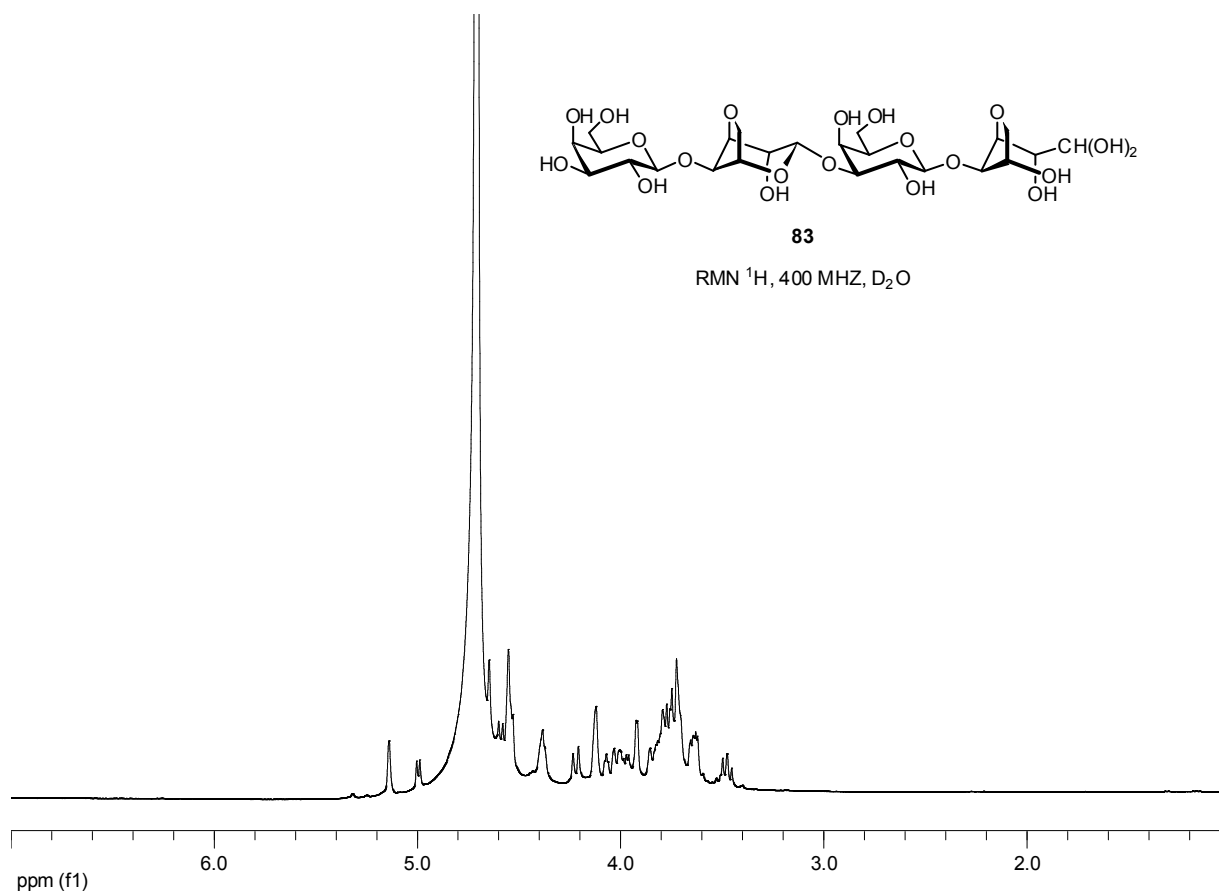
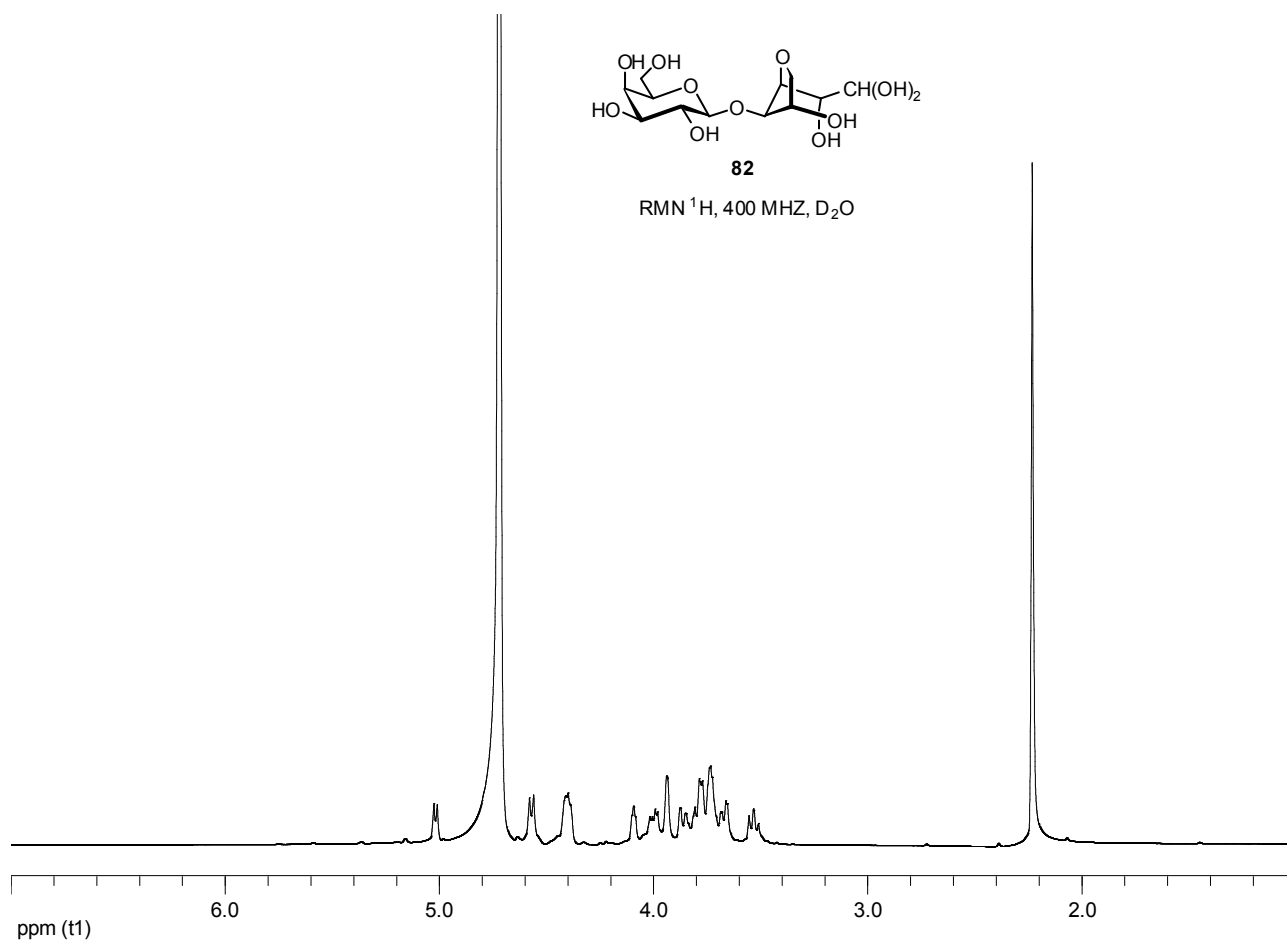
YUAN, H.; *et al.* Preparation and in vitro antioxidant activity of κ -carrageenan oligosaccharides and their oversulfated, acetylated and phosphorylated derivatives. **Carbohydr. Res.**, v. 340, p. 685-692, 2005.

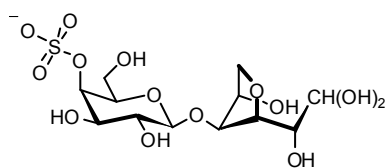
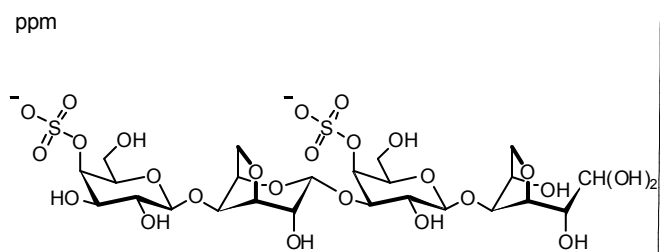
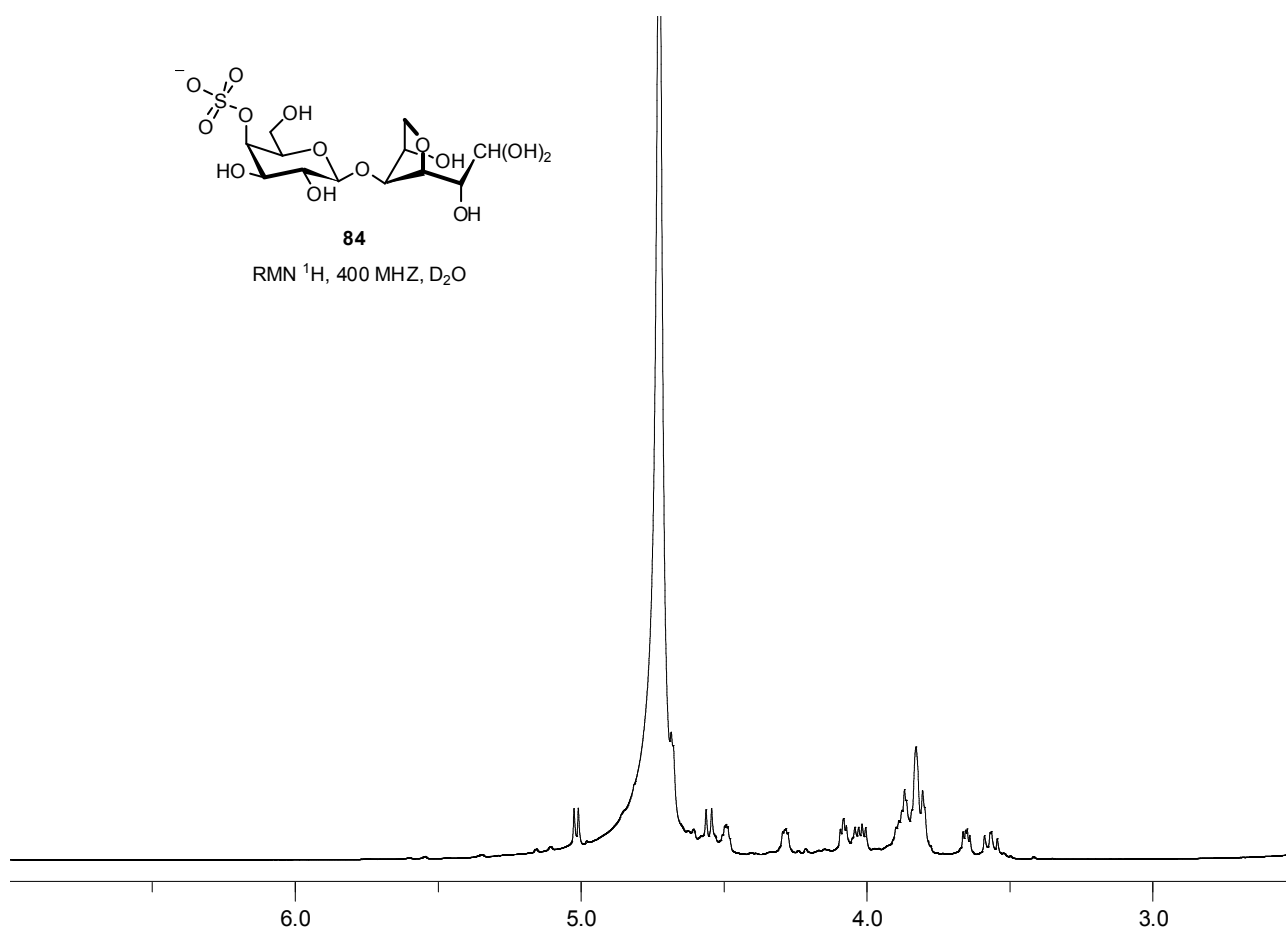
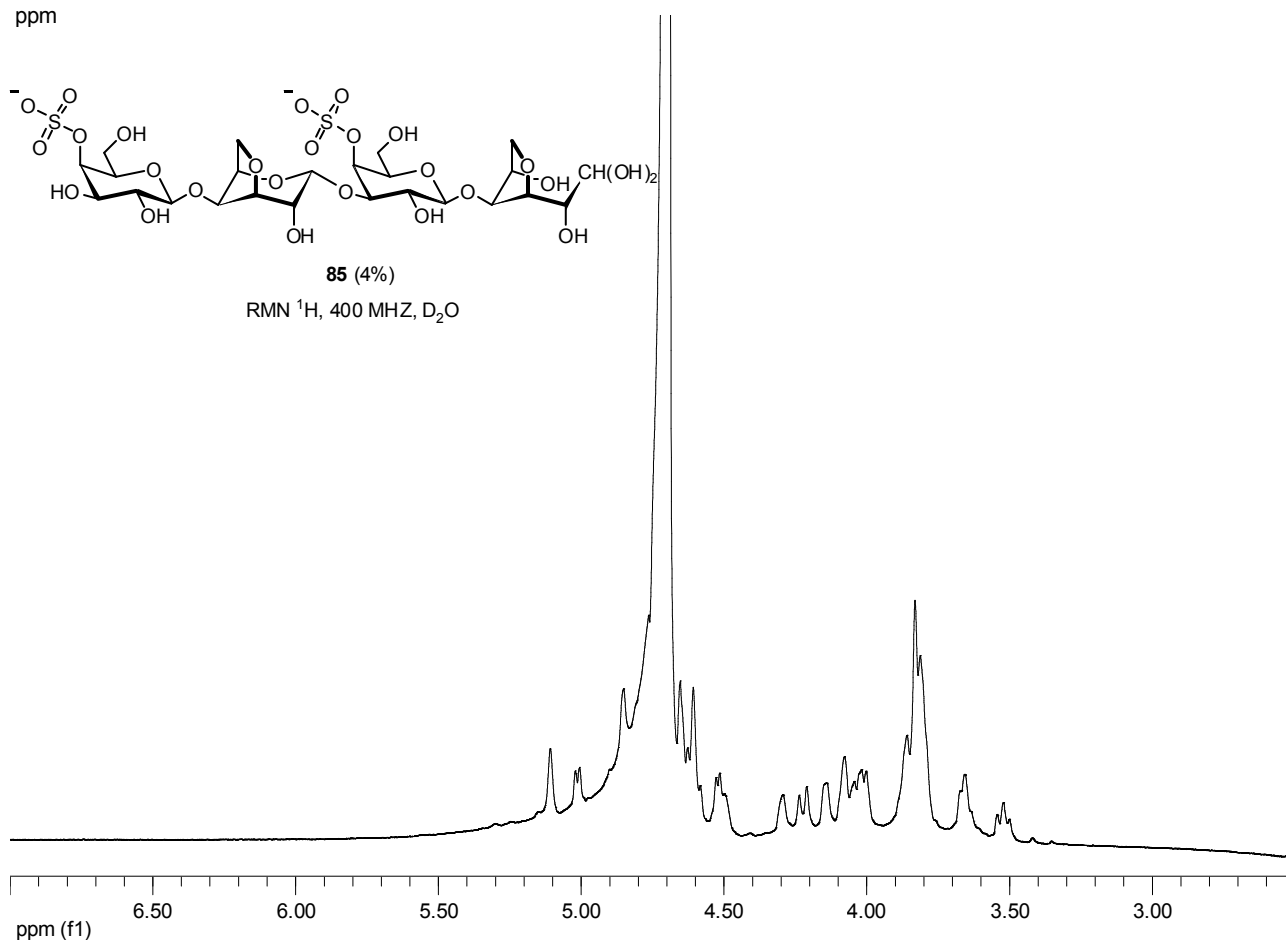
ZHU, Y.; ZAJICEK, J.; SERIANNI, A. S. Acyclic forms of [1-¹³C] aldohexoses in aqueous solution: quantitation by ¹³C NMR and deuterium isotope effects on tautomeric equilibria. **J. Org. Chem.**, v. 66, p. 6244-6251, 2001.

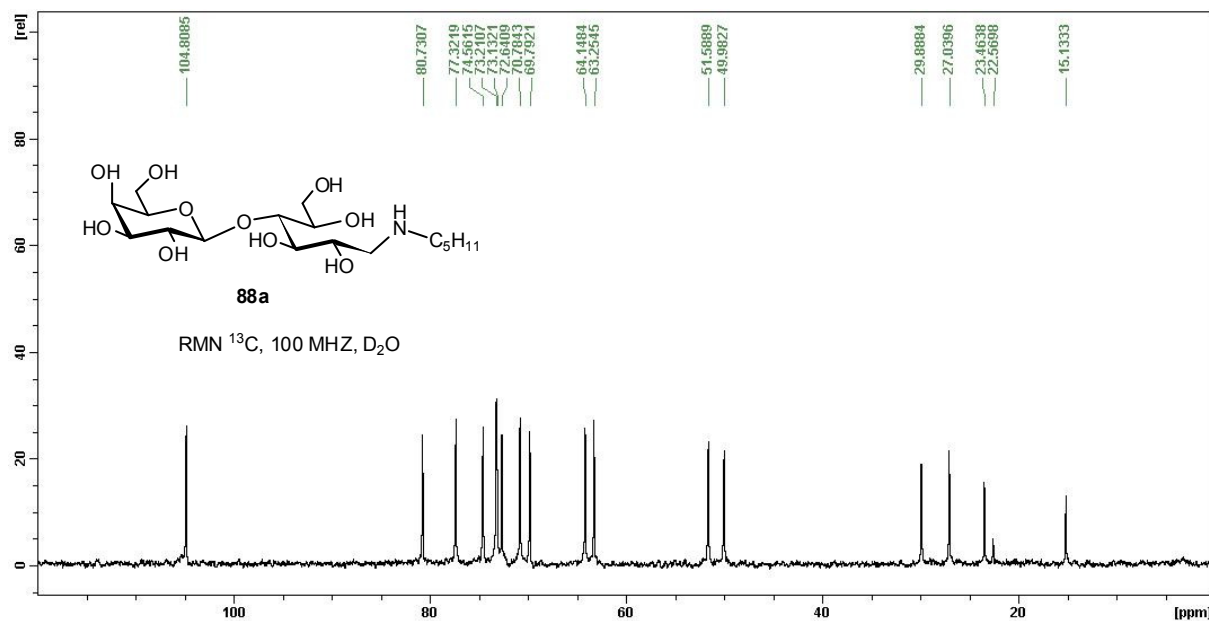
ZOU, K.; *et al.* Synthesis of α -L-threofuranosyl nucleoside triphosphates (tNTPs). **Org. Lett.**, v. 7, p. 1485-1487, 2005.

ANEXOS

A1

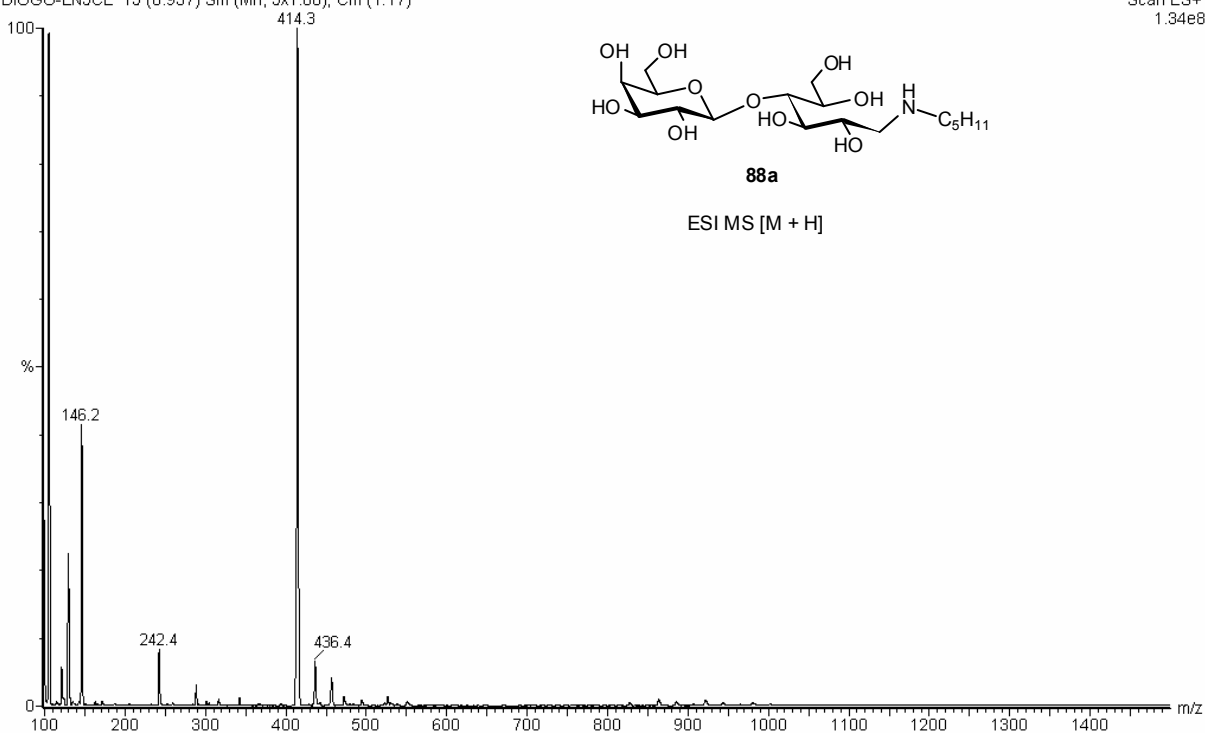


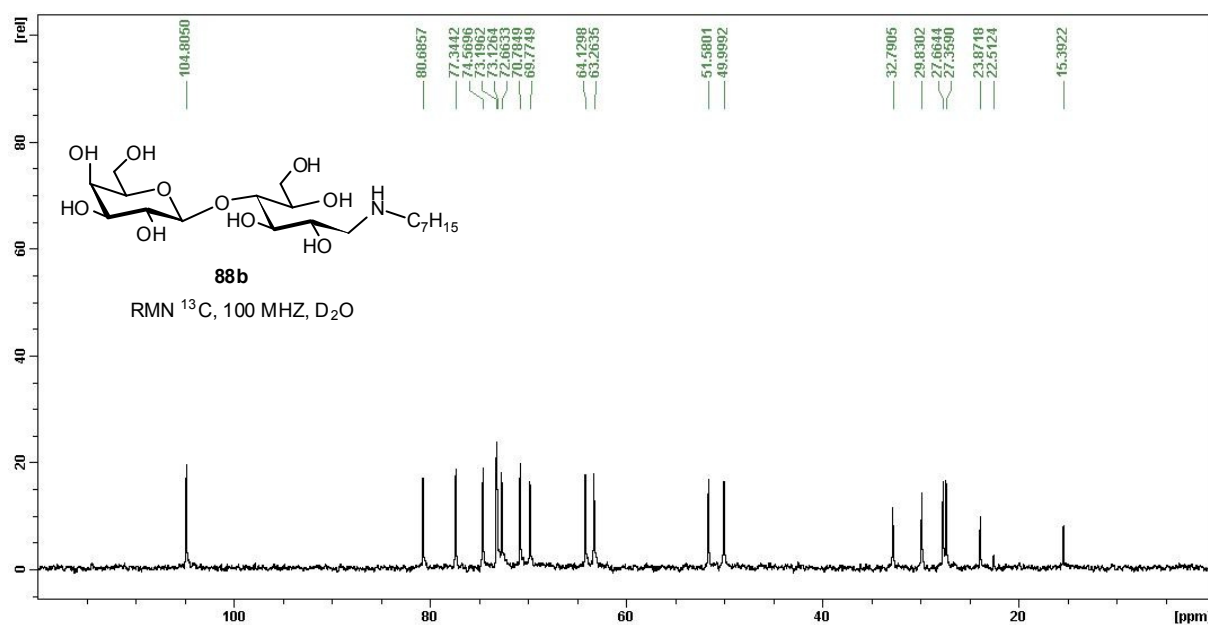
**84**RMN ^1H , 400 MHz, D_2O **85 (4%)**RMN ^1H , 400 MHz, D_2O 



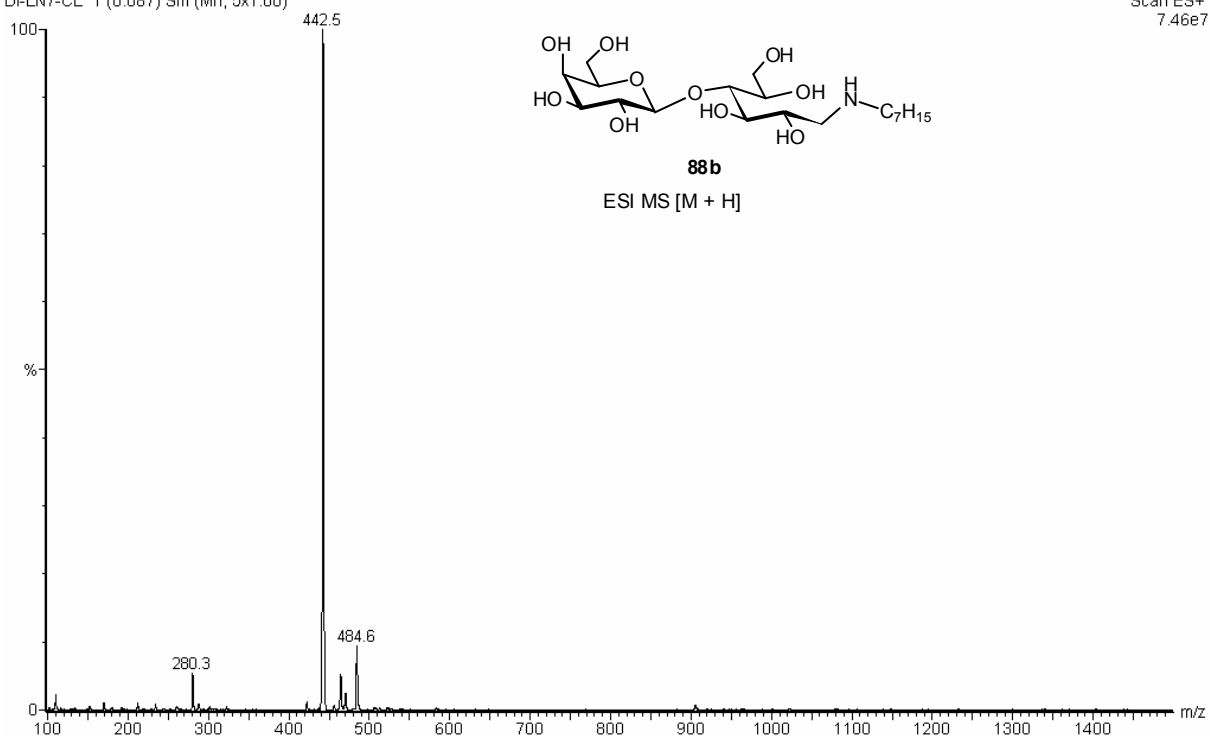
IAC N5 MODO POSILTIO COM CLORETO

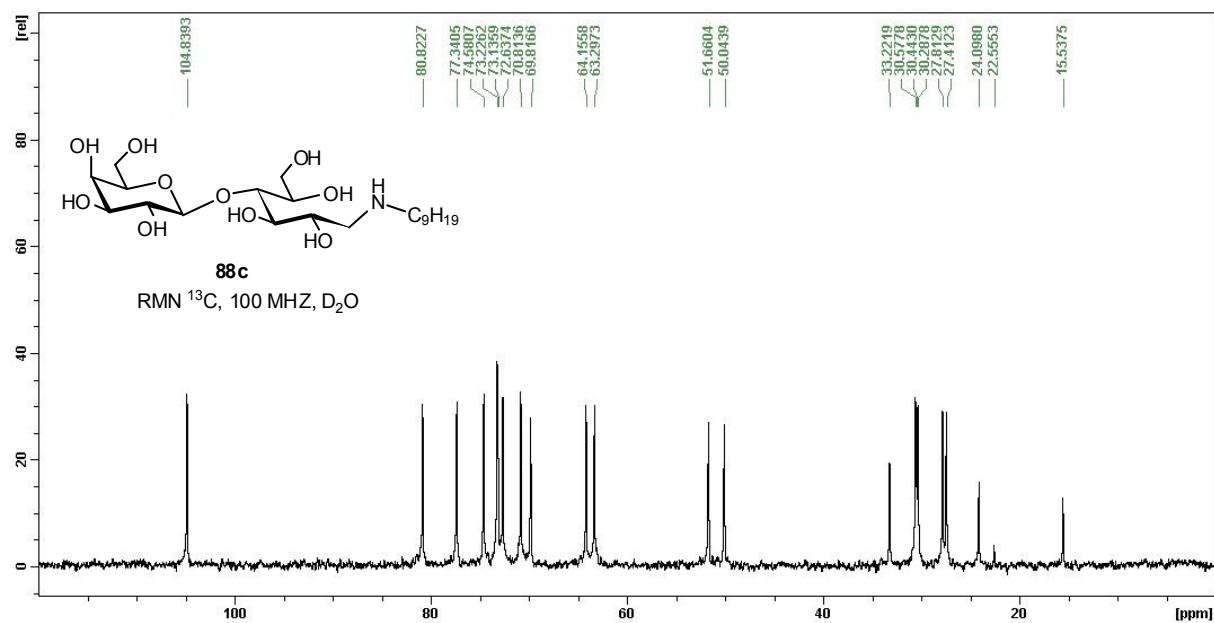
DIOGO-LN5CL 15 (0.937) Sm (Mn, 5x1.00); Cm (1:17)

Scan ES+
1.34e8

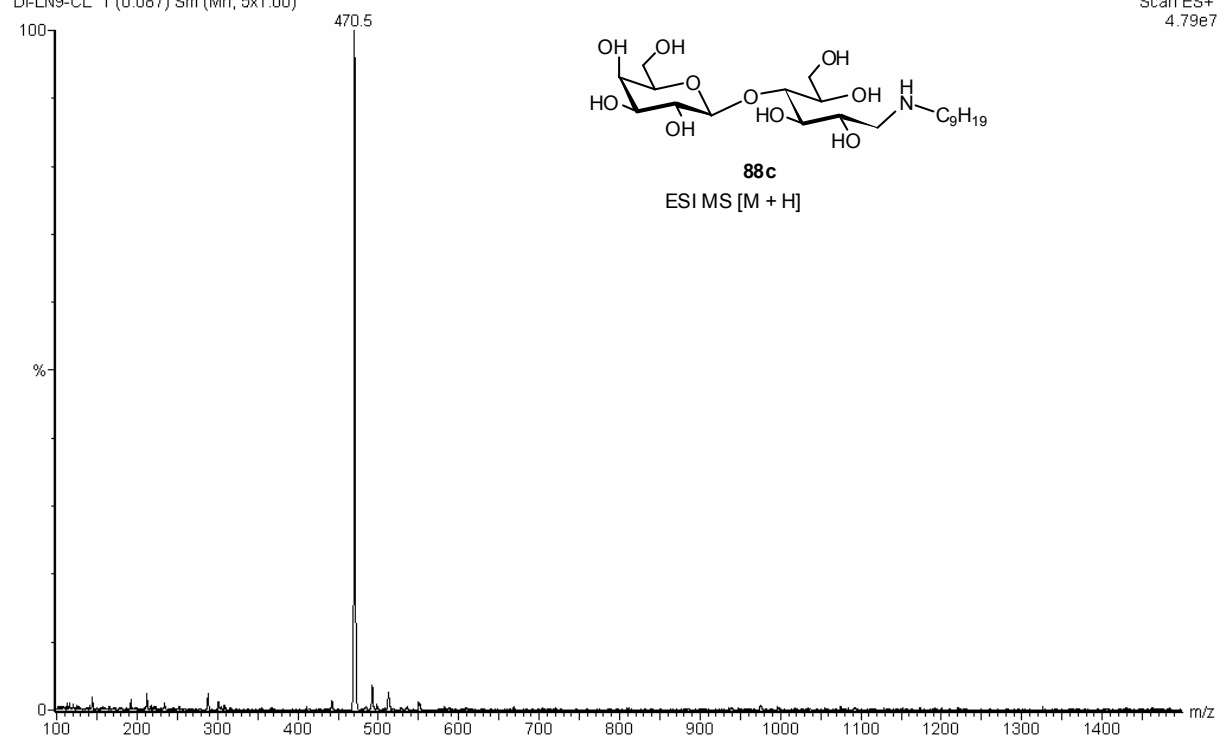
**LAC-C7 CLORETO EM MET50**

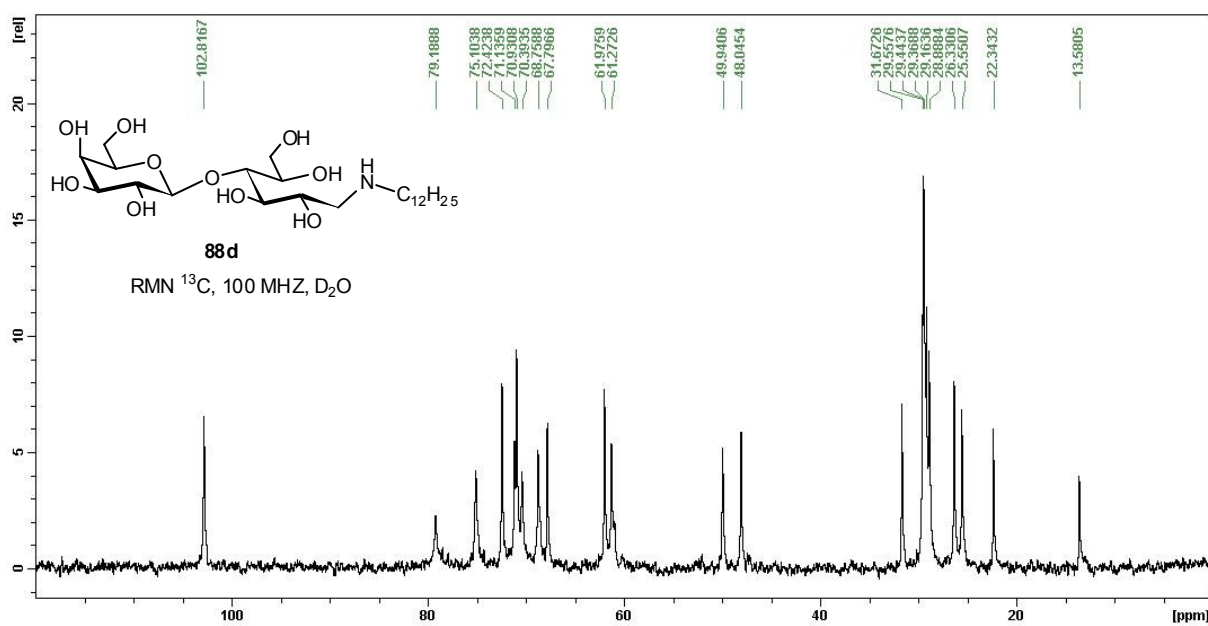
DI-LN7-CL 1 (0.087) Sm (Mn, 5x1.00)

Scan ES+
7.46e7

**LAC-C9 CLORETO EM MET50**

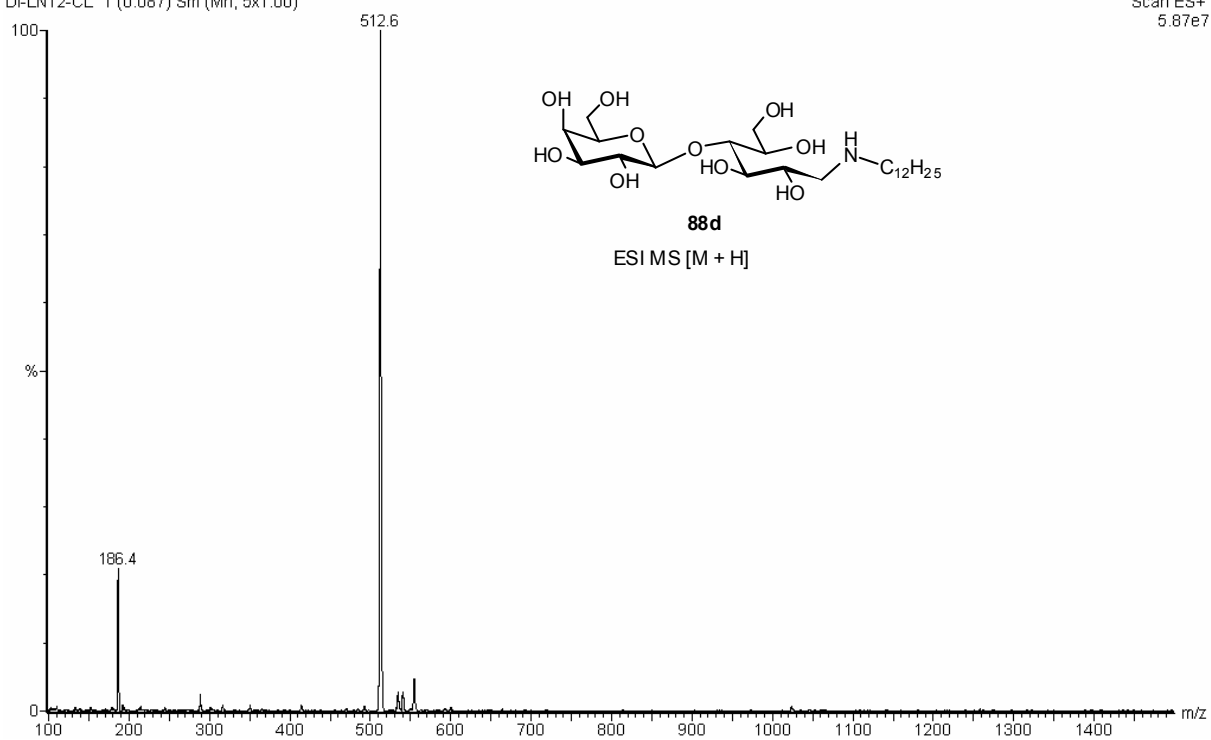
DI-LN9-CL 1 (0.087) Sm (Mn, 5x1.00)

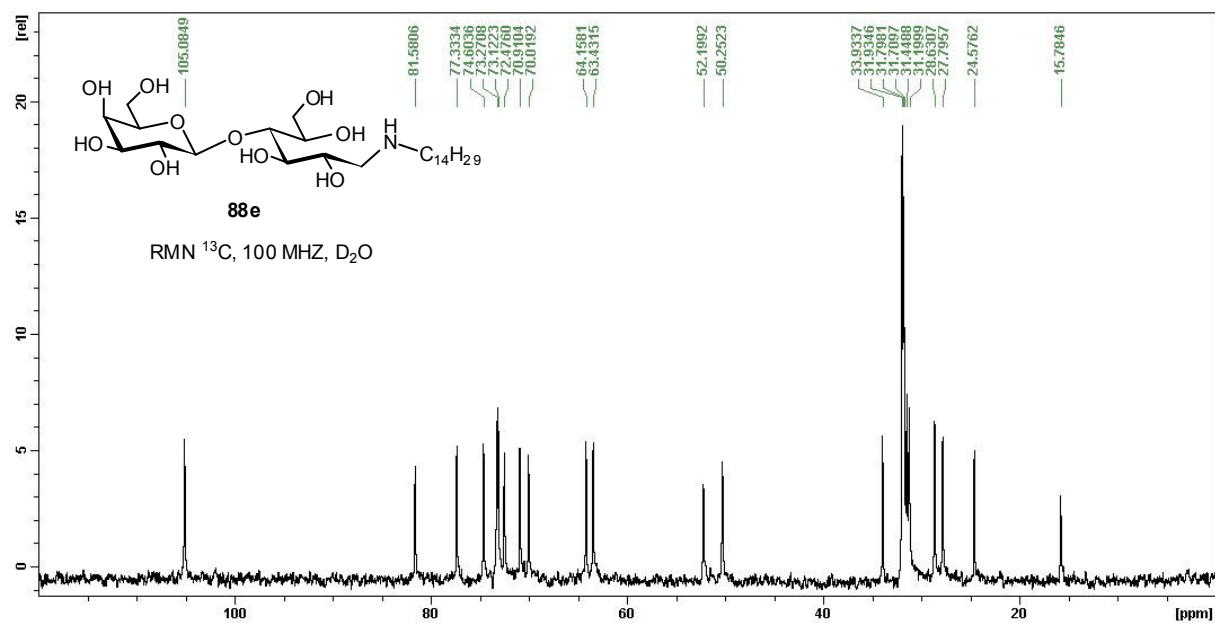




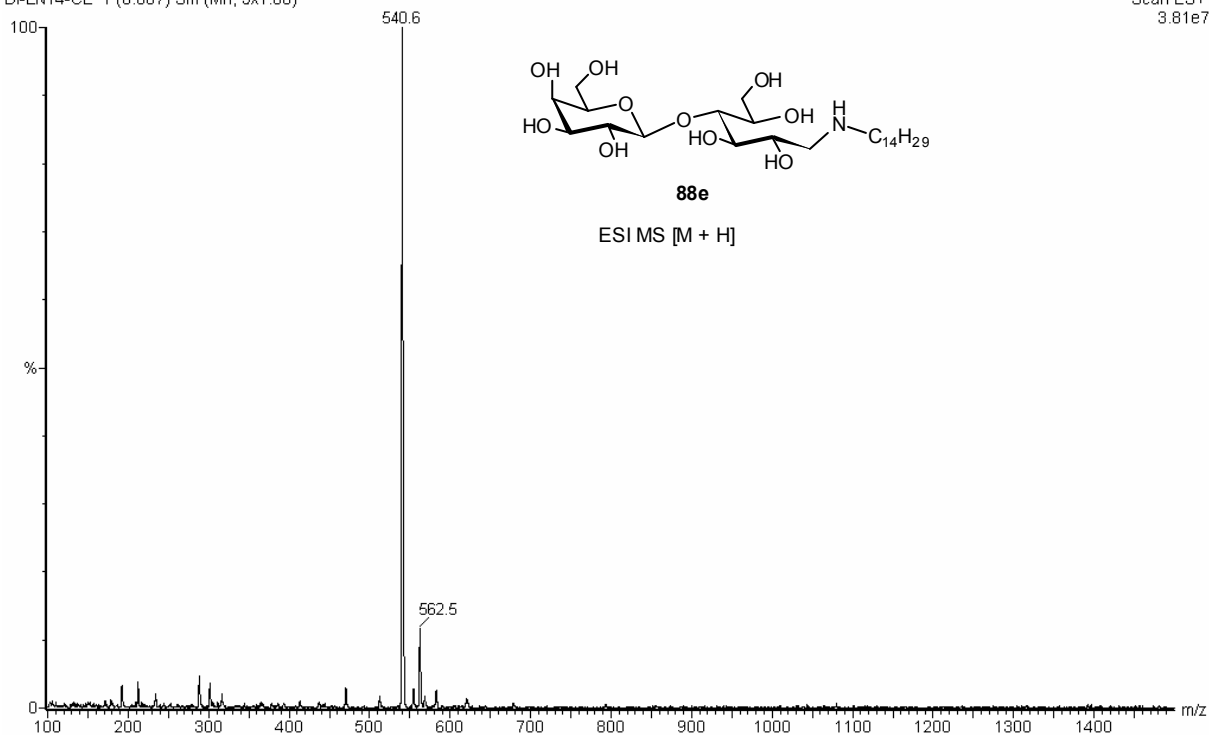
LAC-C12 CLORETO EM MET50
DHLN12-CL 1 (0.087) Sm (Mn, 5x1.00)

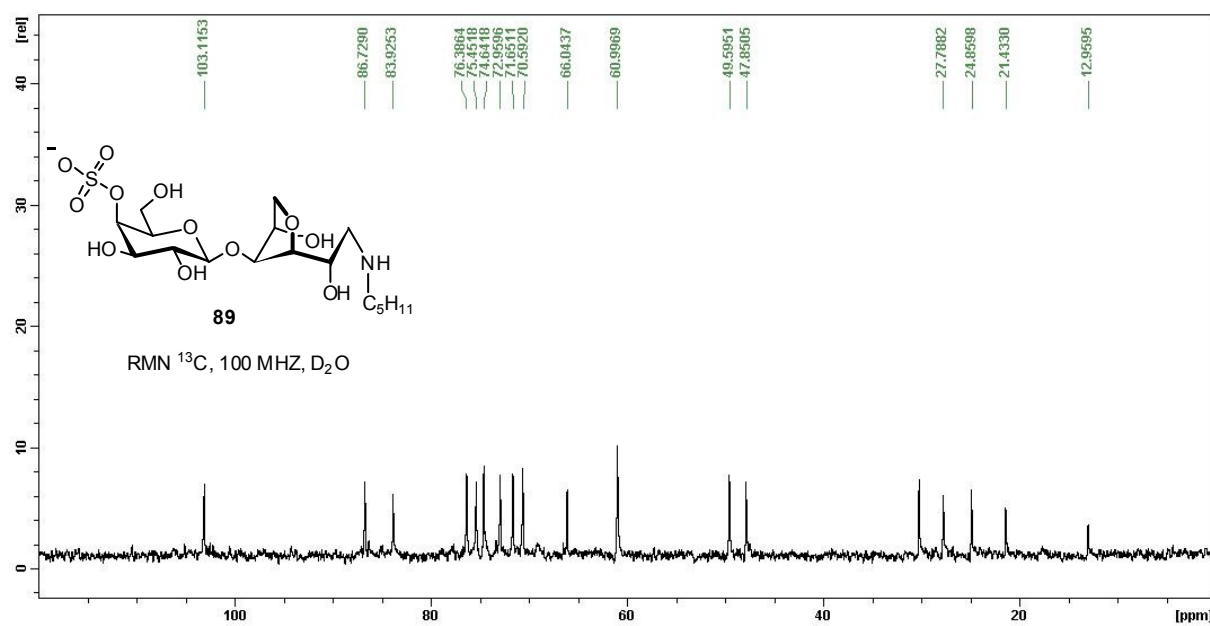
Scan ES+
5.87e7



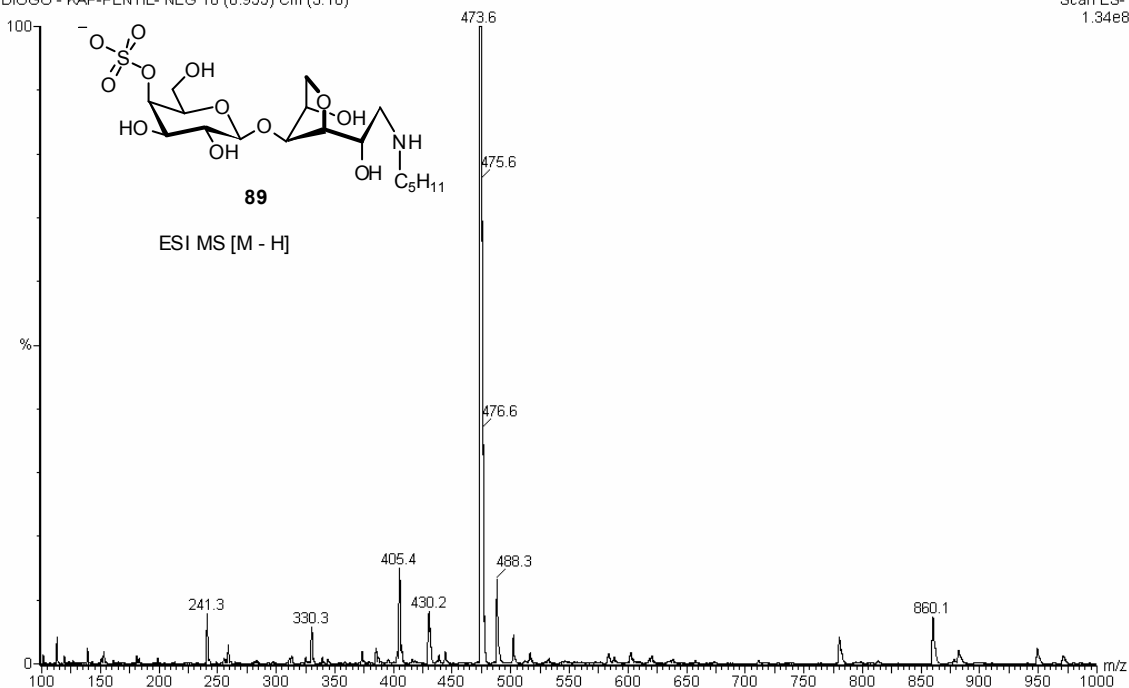
**LAC-C14 CLORETO EM MET50**

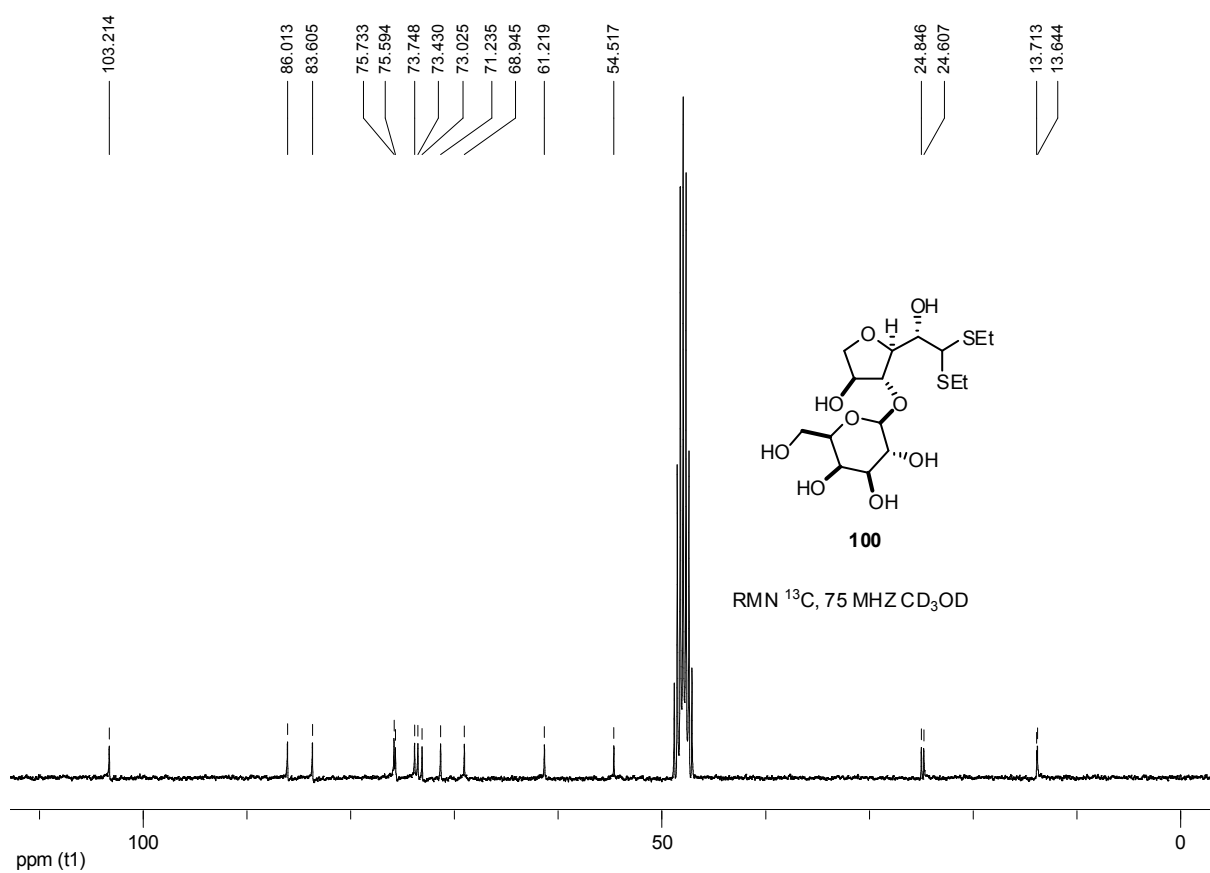
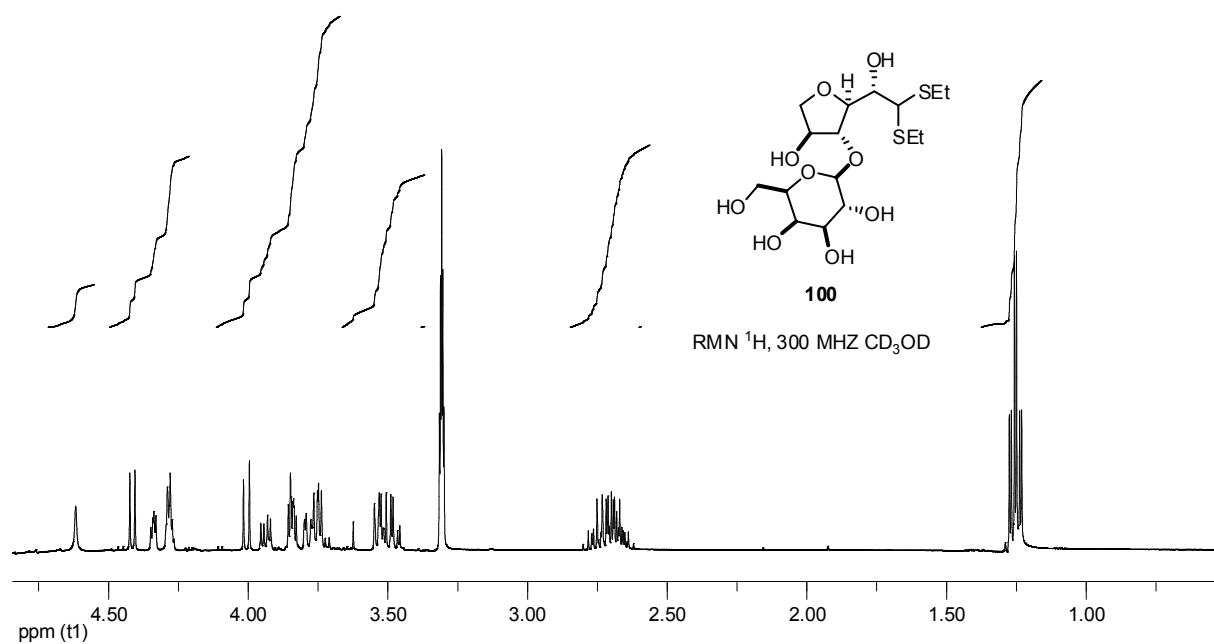
DI-LN14-CL 1 (0.087) Sm (Mn, 5x1.00)

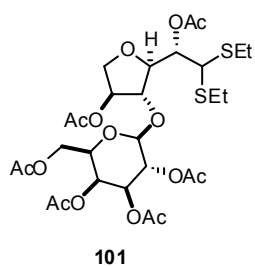
Scan ES+
3.81e7



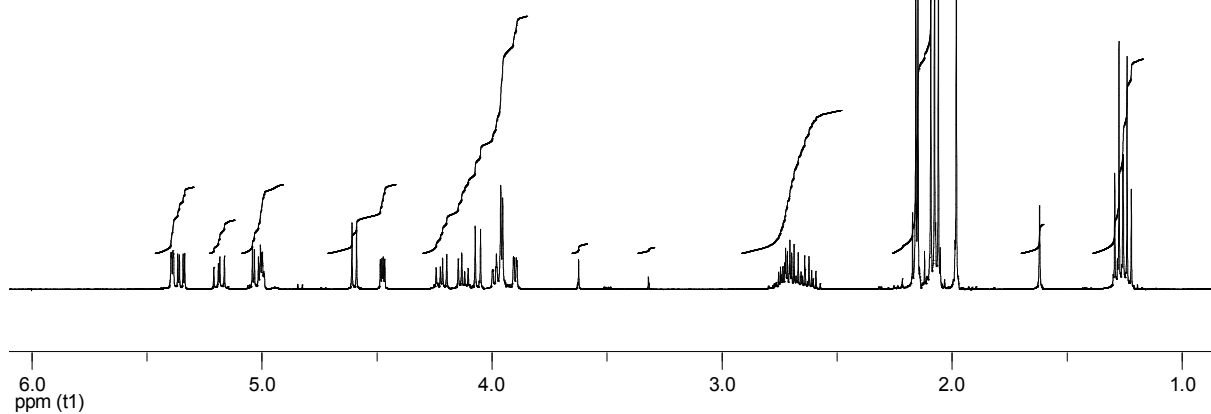
DIOGO - KAP-PENTIL- NEG 18 (0.955) Cm (3:18)

Scan ES-
1.34e8

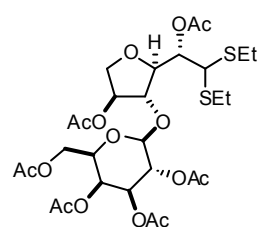




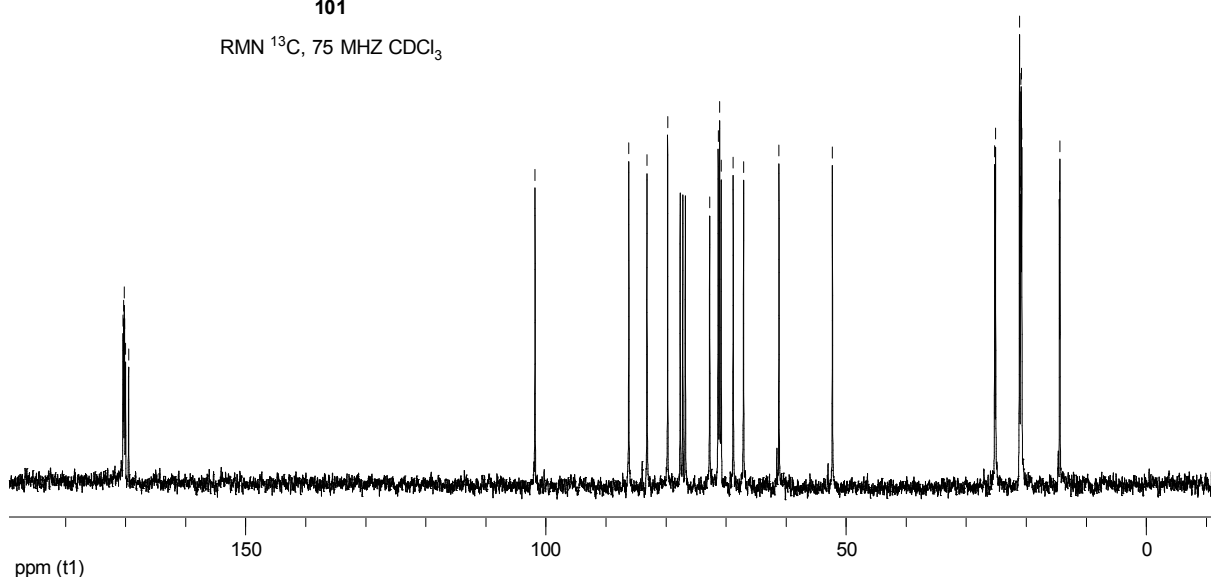
RMN ^1H , 300 MHz CDCl_3

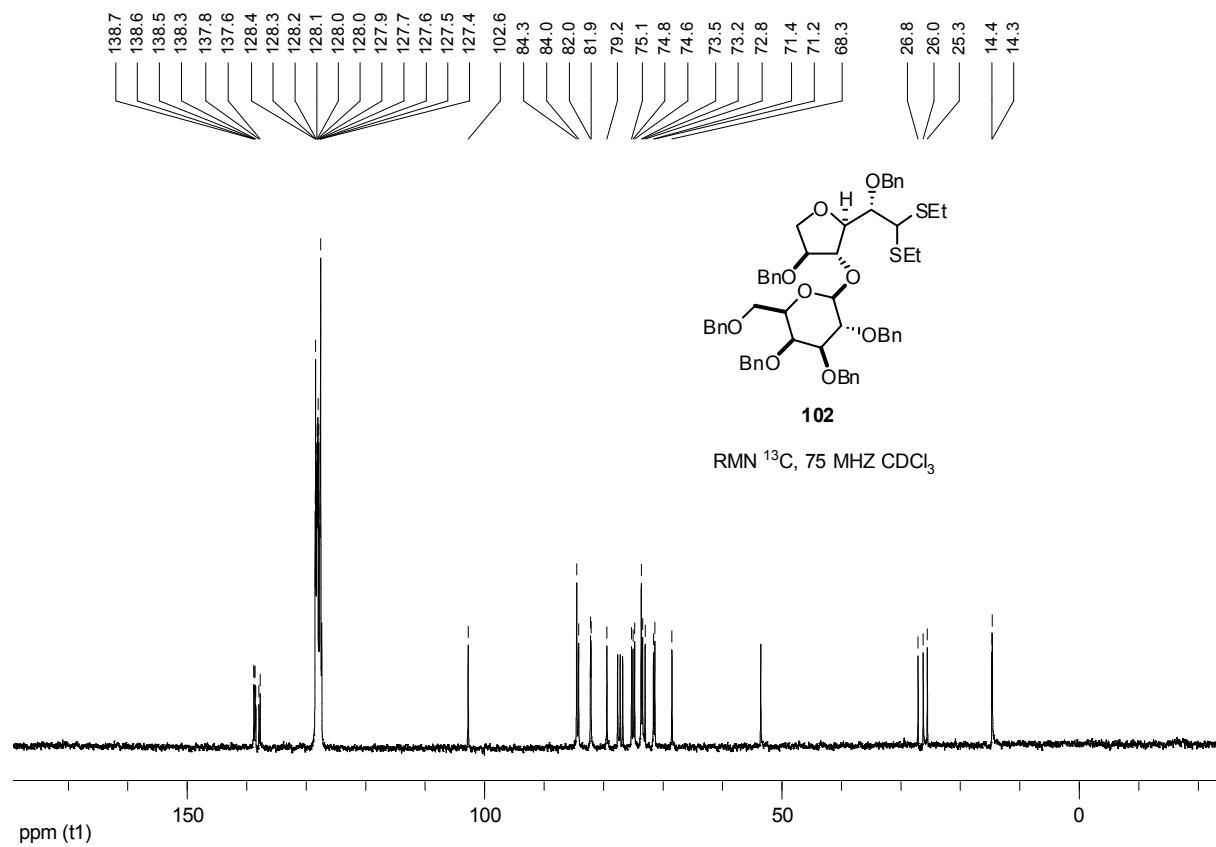
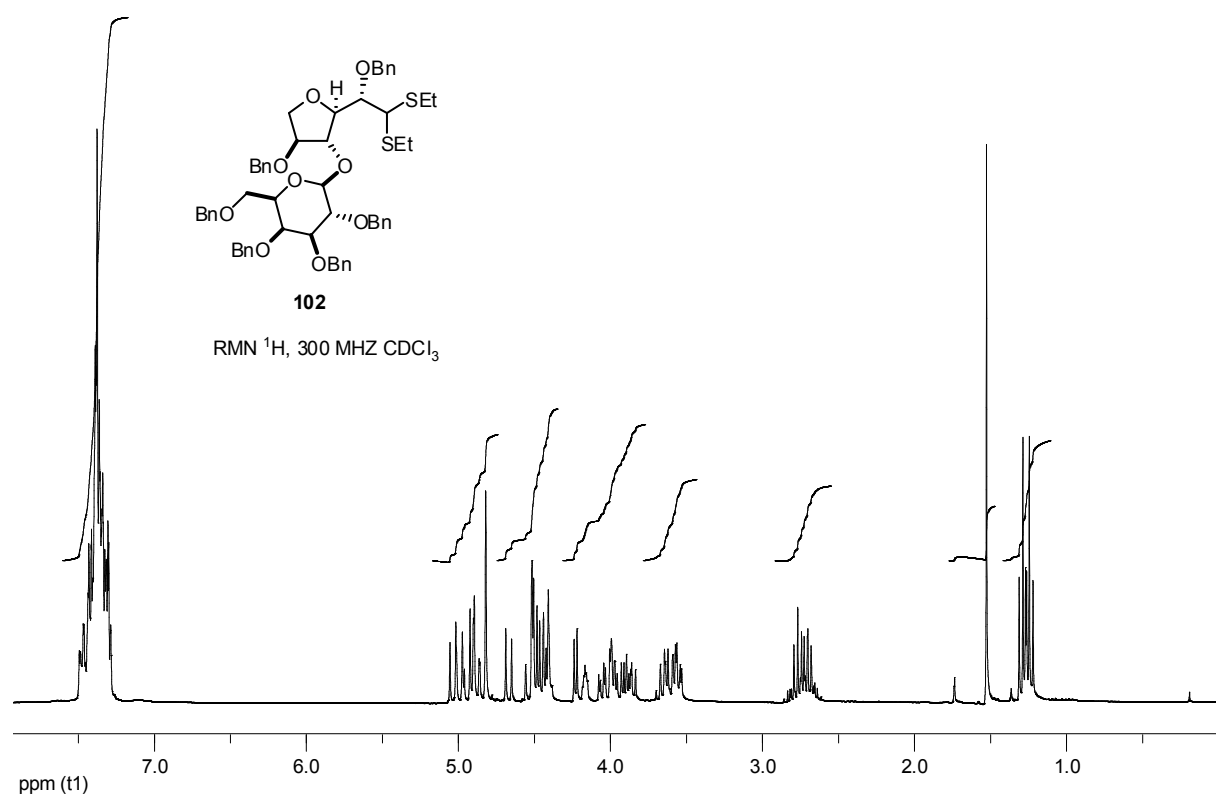


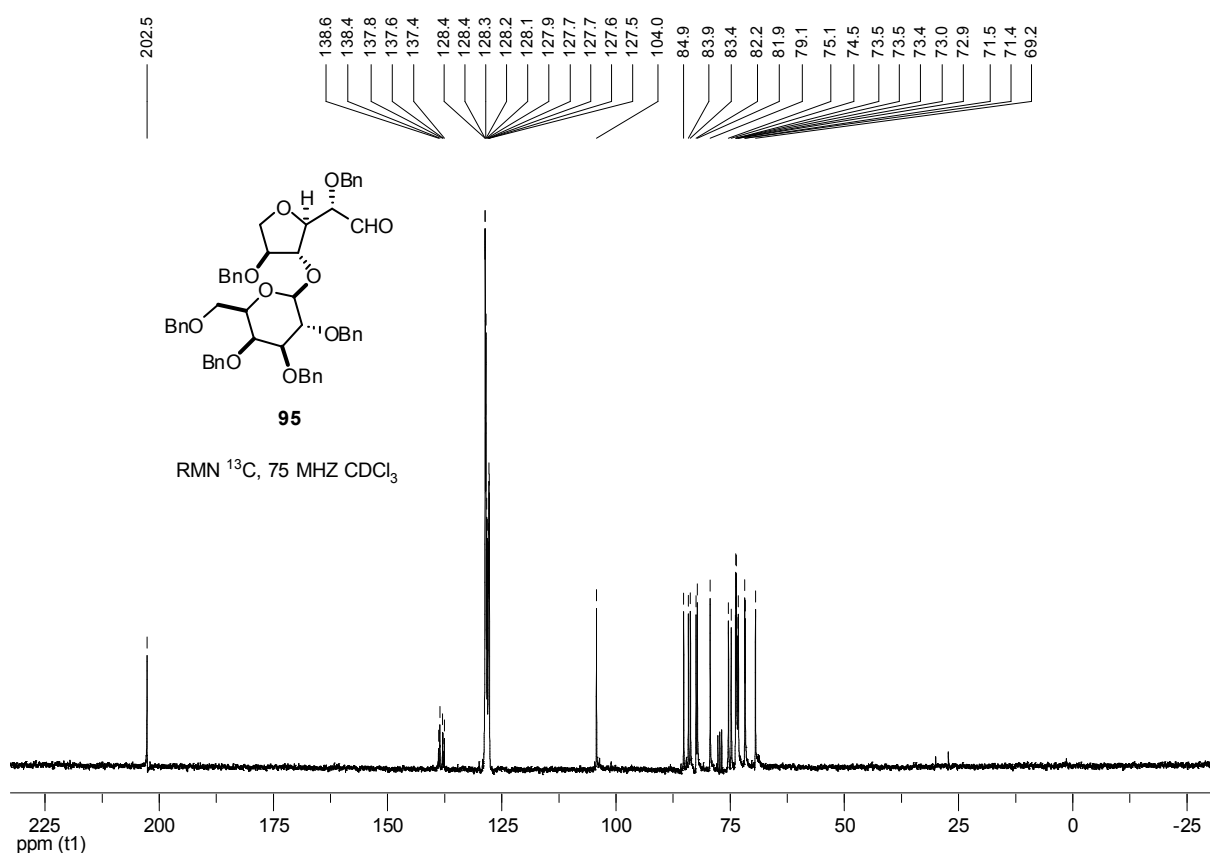
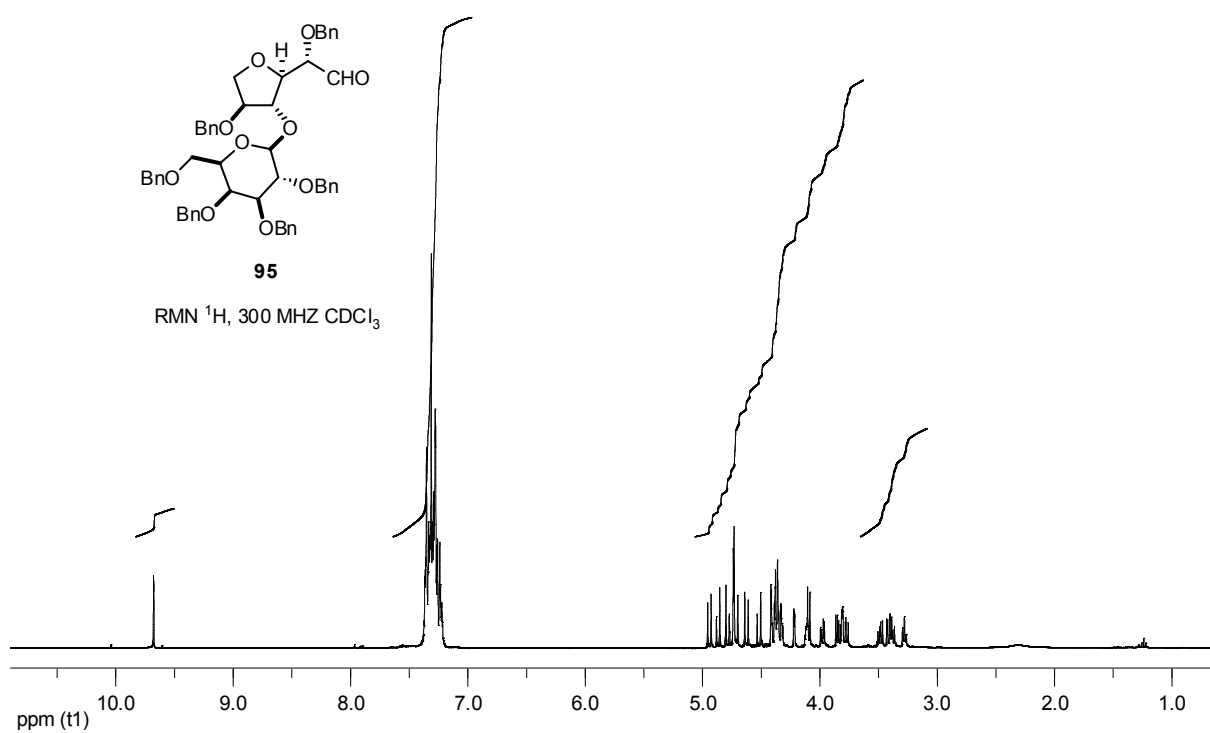
170.3
170.2
170.1
169.9
169.4

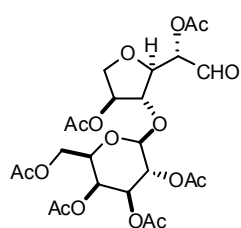
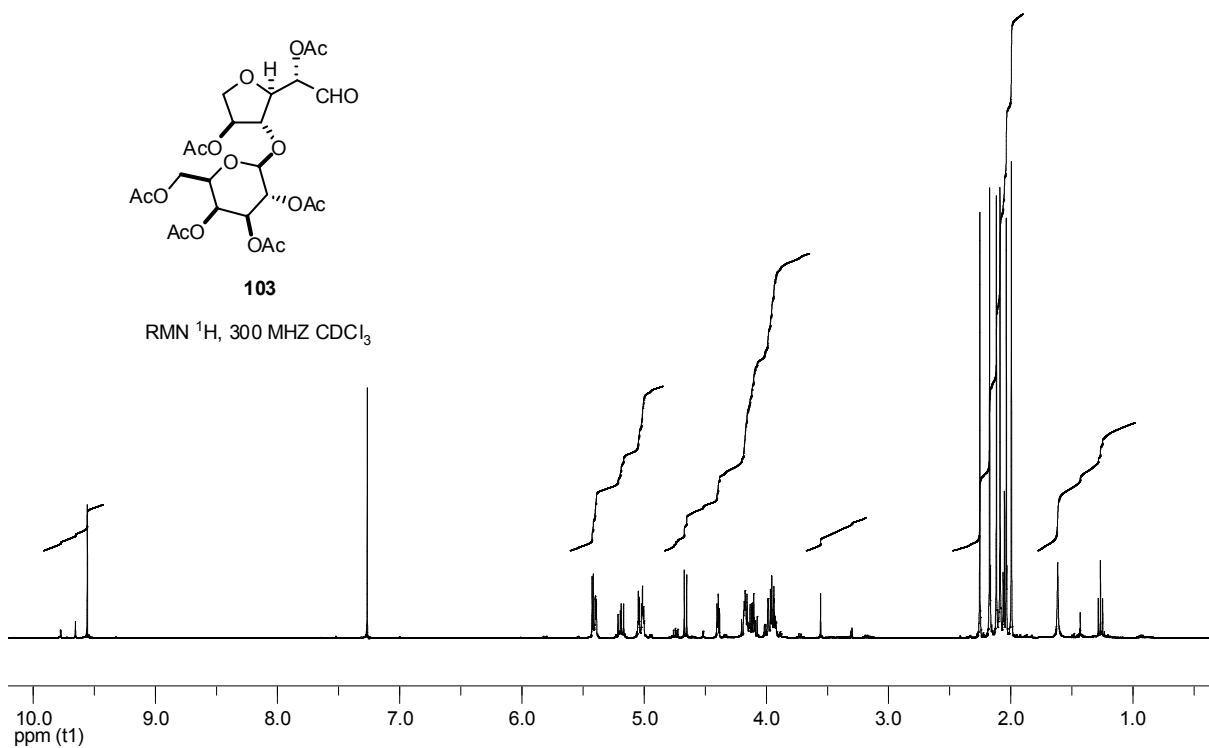


RMN ^{13}C , 75 MHz CDCl_3







**103**RMN ^1H , 300 MHz CDCl_3 

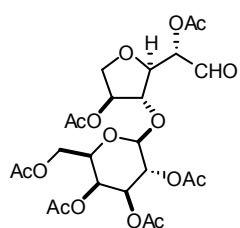
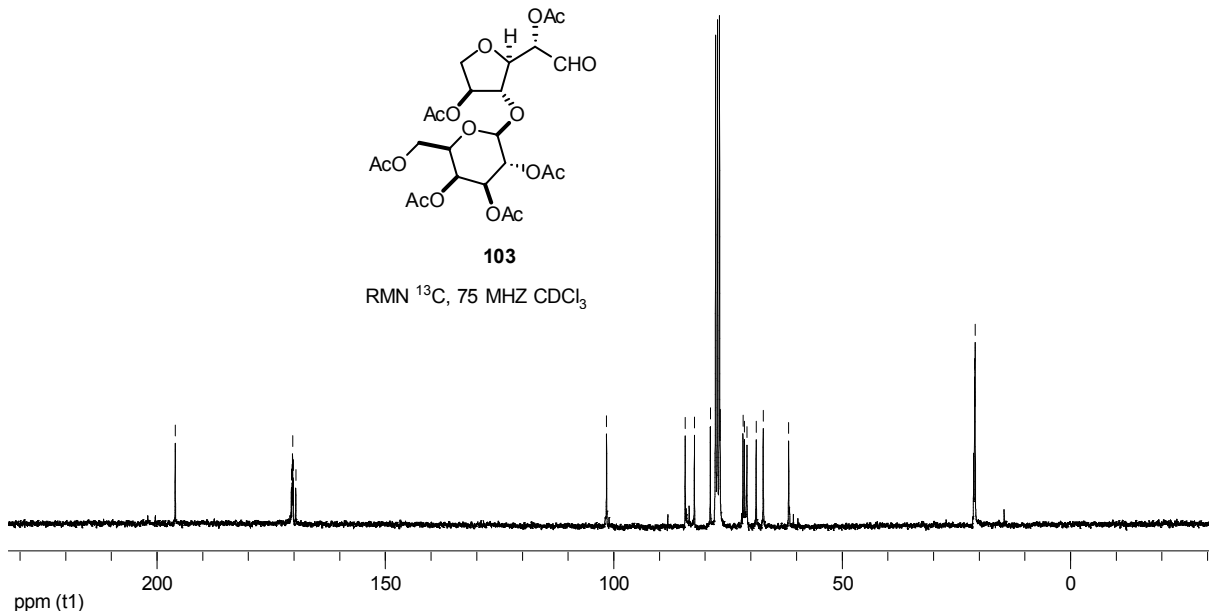
195.9

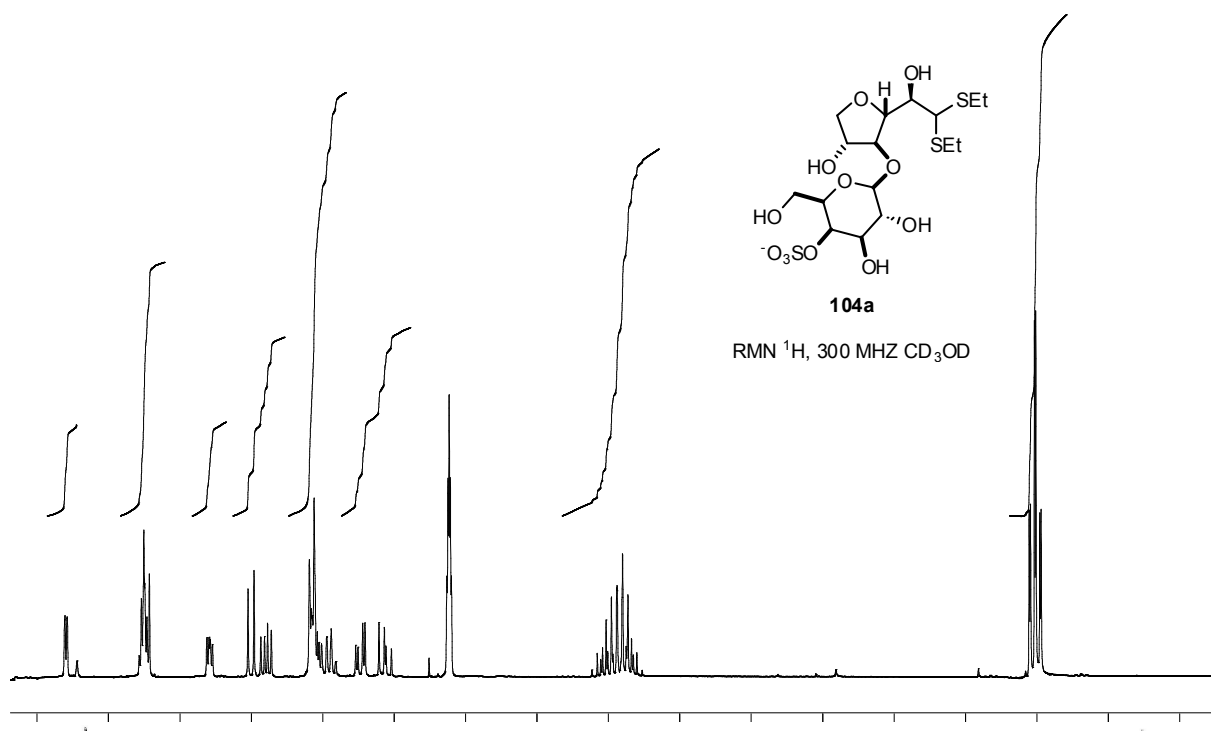
170.4
170.3
170.1
170.0
169.4

101.3

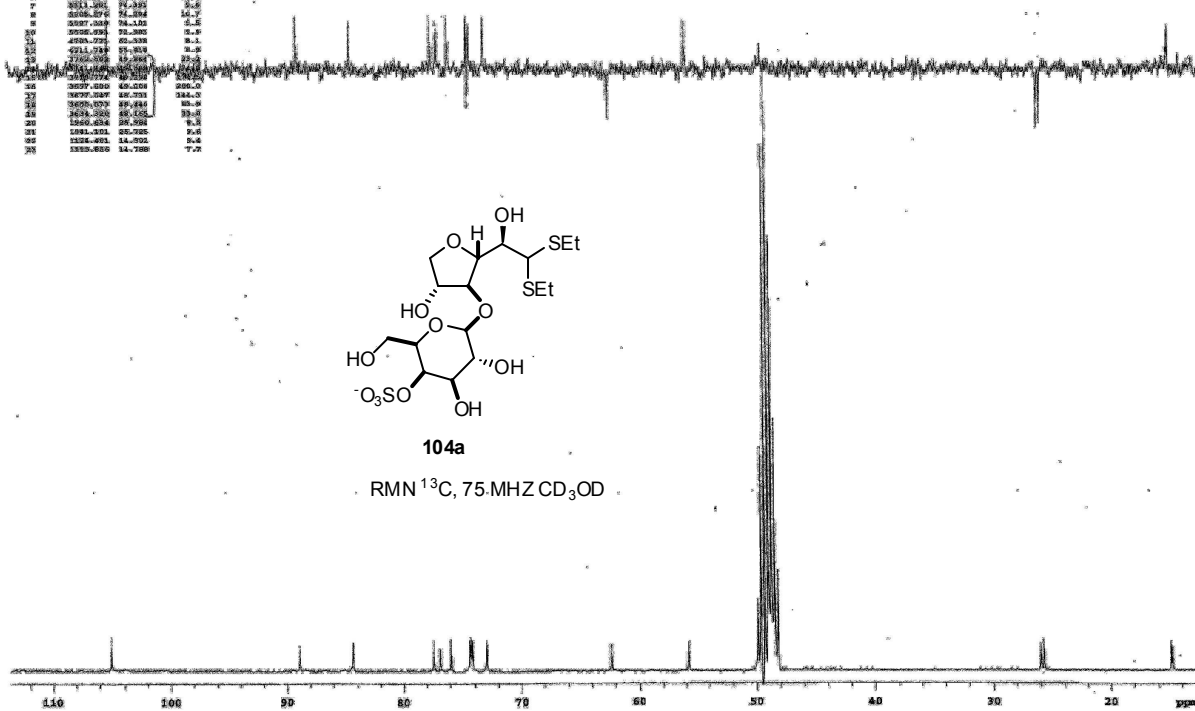
84.1
82.1
78.6
71.4
71.1
70.6
68.5
67.0
61.4

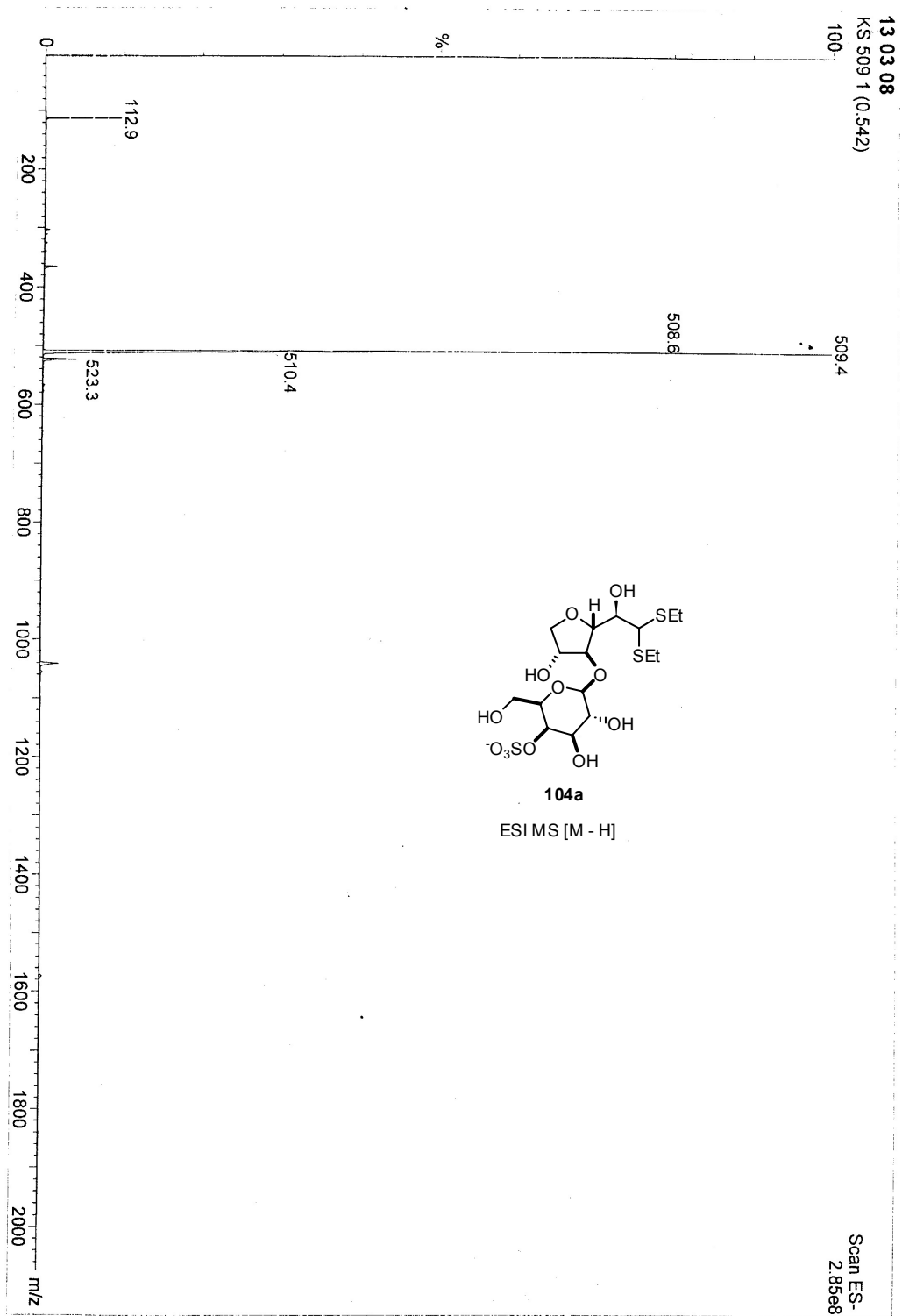
20.6
20.5

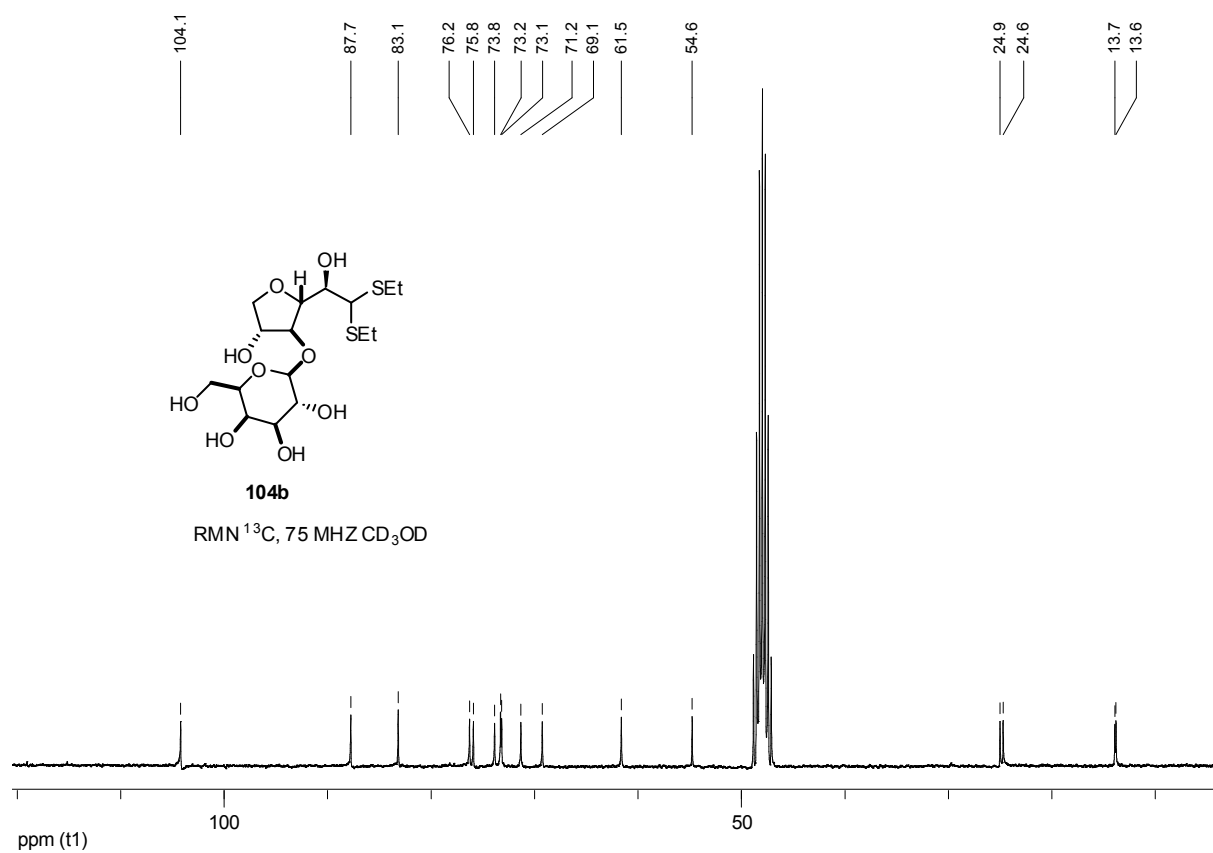
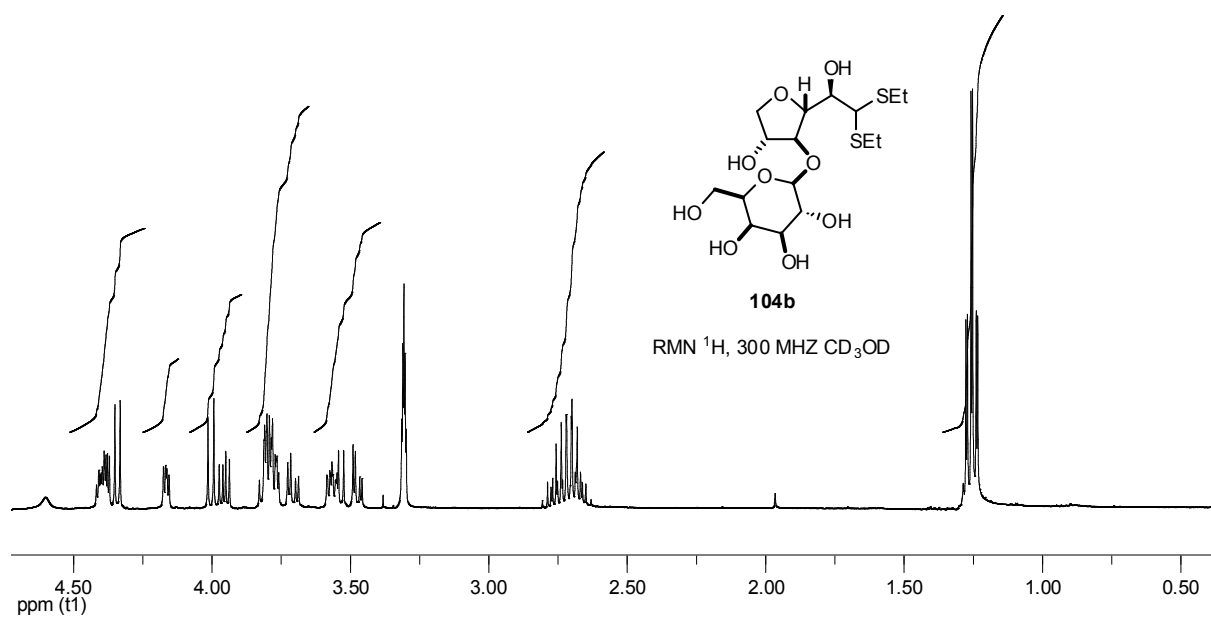
**103**RMN ^{13}C , 75 MHz CDCl_3 

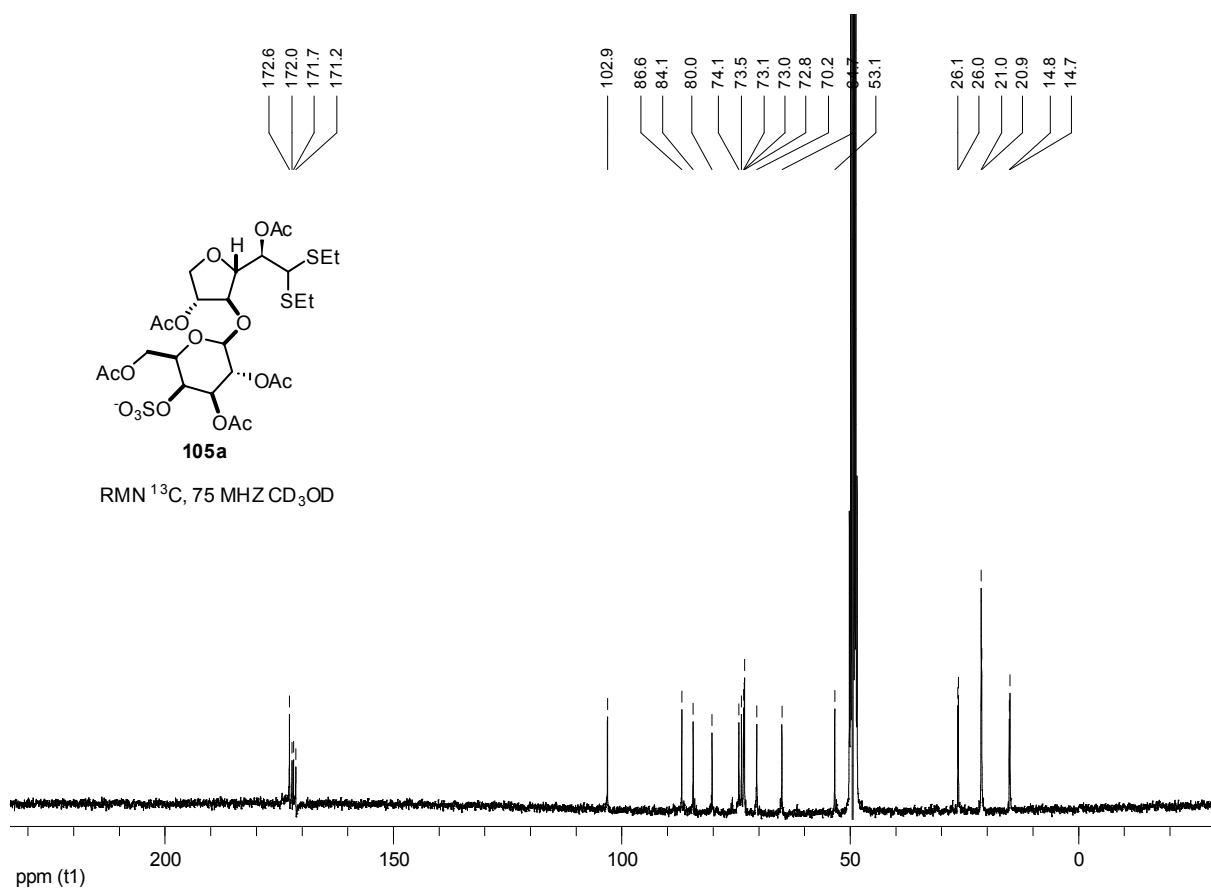
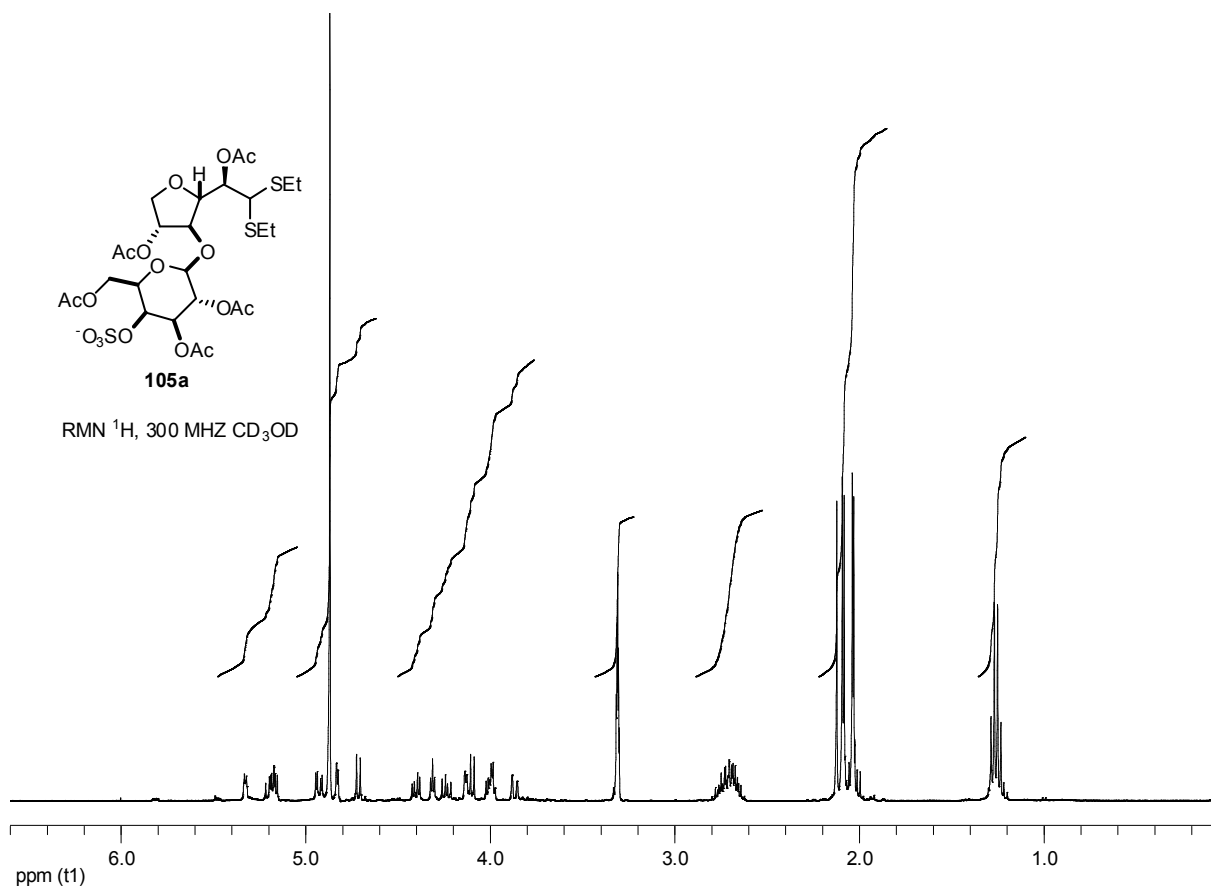


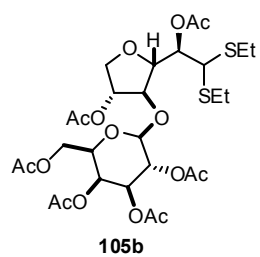
CHARGE	RESONANCE	20K	100K
1	7920.725	180.050	18.7
2	8790.238	85.007	18.3
3	8790.238	85.007	18.0
4	8790.238	85.007	18.0
5	8790.238	85.007	18.0
6	8790.238	85.007	18.0
7	8790.238	85.007	18.0
8	8790.238	85.007	18.0
9	8790.238	85.007	18.0
10	8790.238	85.007	18.0
11	8790.238	85.007	18.0
12	8790.238	85.007	18.0
13	8790.238	85.007	18.0
14	8790.238	85.007	18.0
15	8790.238	85.007	18.0
16	8790.238	85.007	18.0
17	8790.238	85.007	18.0
18	8790.238	85.007	18.0
19	8790.238	85.007	18.0
20	8790.238	85.007	18.0
21	8790.238	85.007	18.0
22	8790.238	85.007	18.0
23	8790.238	85.007	18.0
24	8790.238	85.007	18.0
25	8790.238	85.007	18.0
26	8790.238	85.007	18.0
27	8790.238	85.007	18.0
28	8790.238	85.007	18.0
29	8790.238	85.007	18.0
30	8790.238	85.007	18.0
31	8790.238	85.007	18.0
32	8790.238	85.007	18.0
33	8790.238	85.007	18.0
34	8790.238	85.007	18.0
35	8790.238	85.007	18.0
36	8790.238	85.007	18.0
37	8790.238	85.007	18.0
38	8790.238	85.007	18.0
39	8790.238	85.007	18.0
40	8790.238	85.007	18.0
41	8790.238	85.007	18.0
42	8790.238	85.007	18.0
43	8790.238	85.007	18.0
44	8790.238	85.007	18.0
45	8790.238	85.007	18.0
46	8790.238	85.007	18.0
47	8790.238	85.007	18.0
48	8790.238	85.007	18.0
49	8790.238	85.007	18.0
50	8790.238	85.007	18.0
51	8790.238	85.007	18.0
52	8790.238	85.007	18.0
53	8790.238	85.007	18.0
54	8790.238	85.007	18.0
55	8790.238	85.007	18.0
56	8790.238	85.007	18.0
57	8790.238	85.007	18.0
58	8790.238	85.007	18.0
59	8790.238	85.007	18.0
60	8790.238	85.007	18.0
61	8790.238	85.007	18.0
62	8790.238	85.007	18.0
63	8790.238	85.007	18.0
64	8790.238	85.007	18.0
65	8790.238	85.007	18.0
66	8790.238	85.007	18.0
67	8790.238	85.007	18.0
68	8790.238	85.007	18.0
69	8790.238	85.007	18.0
70	8790.238	85.007	18.0



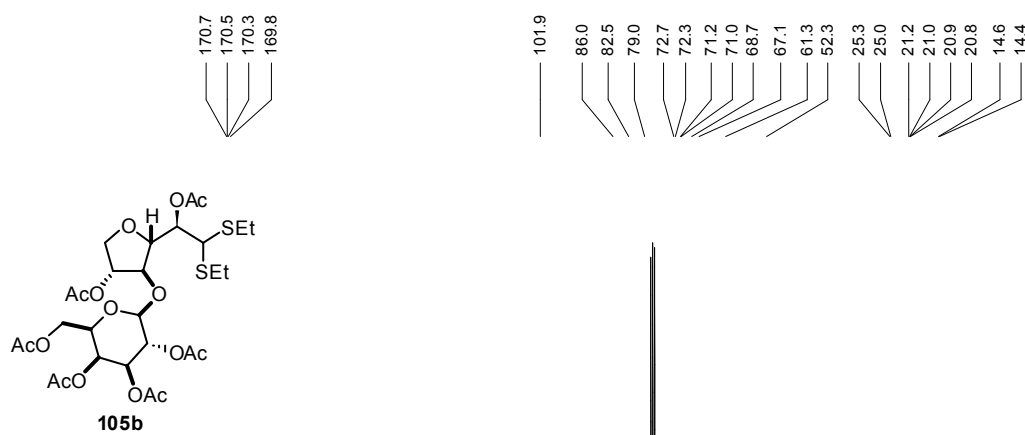
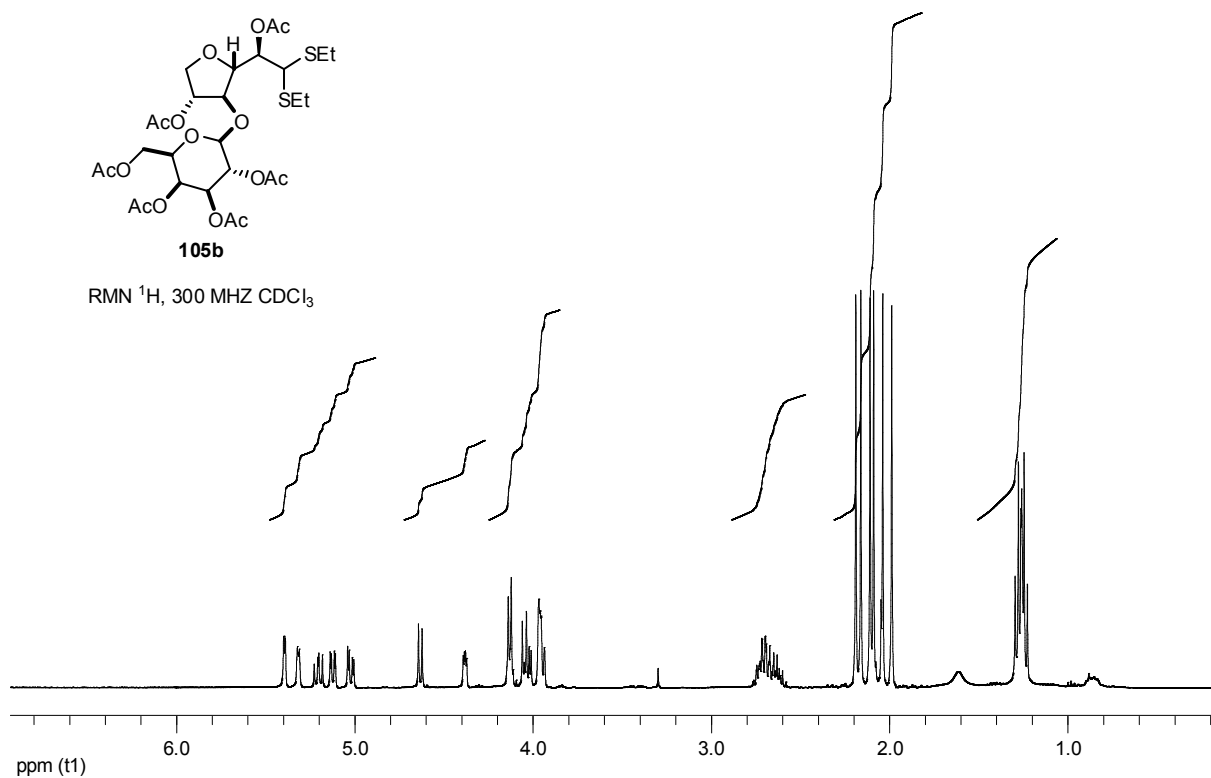




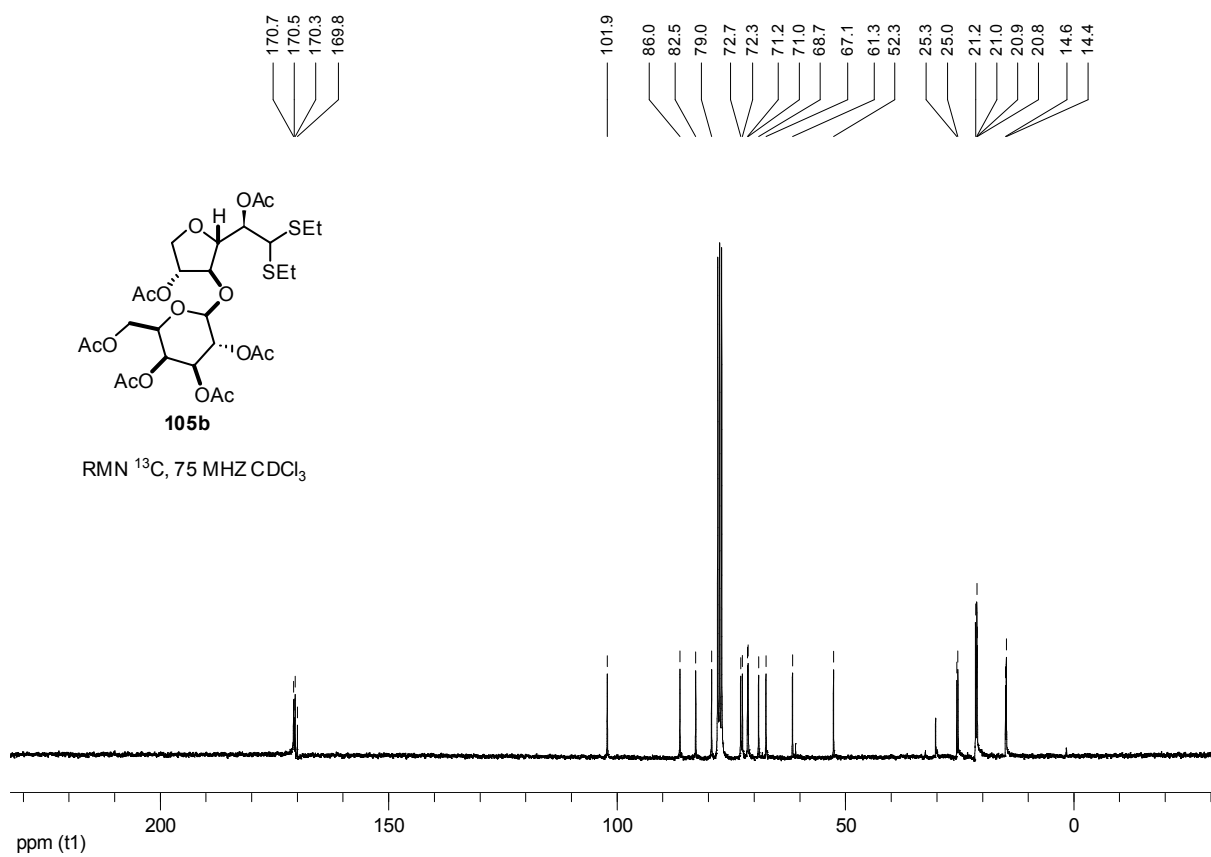


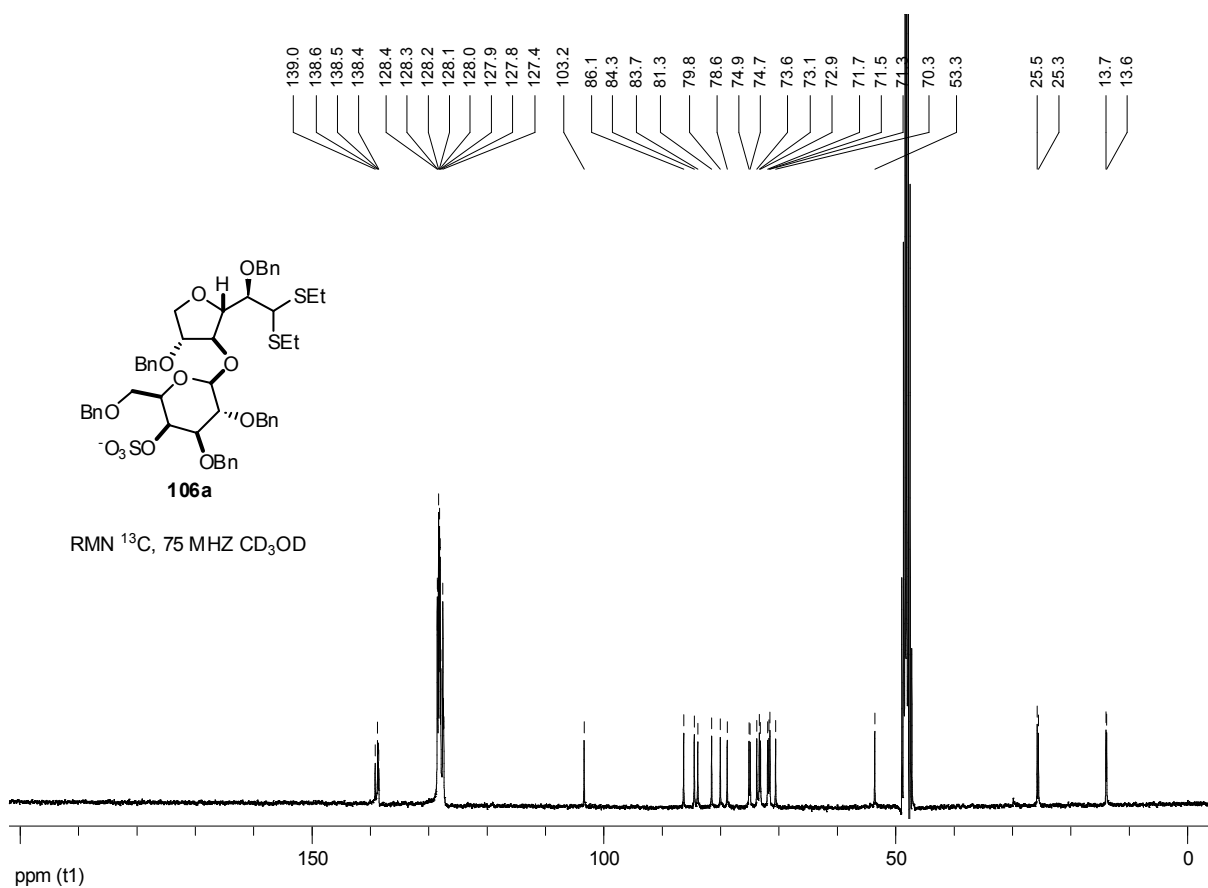
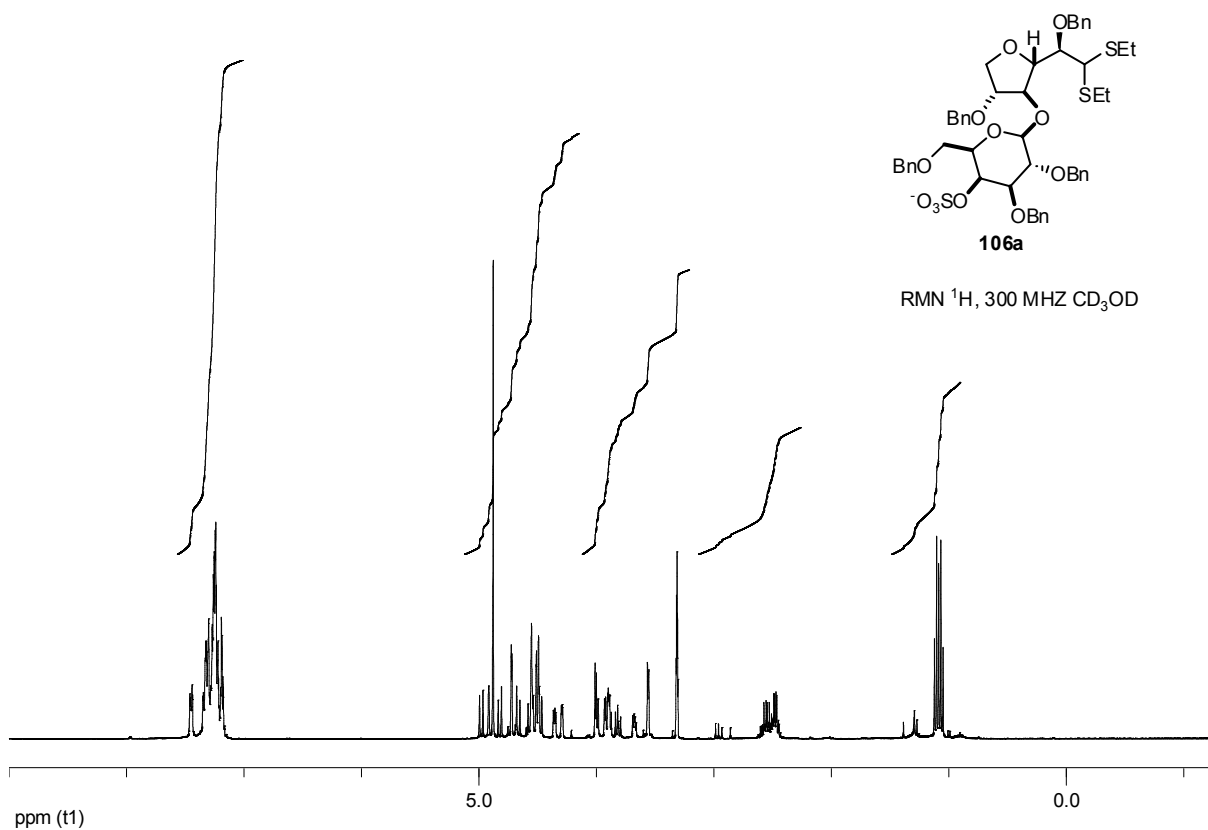


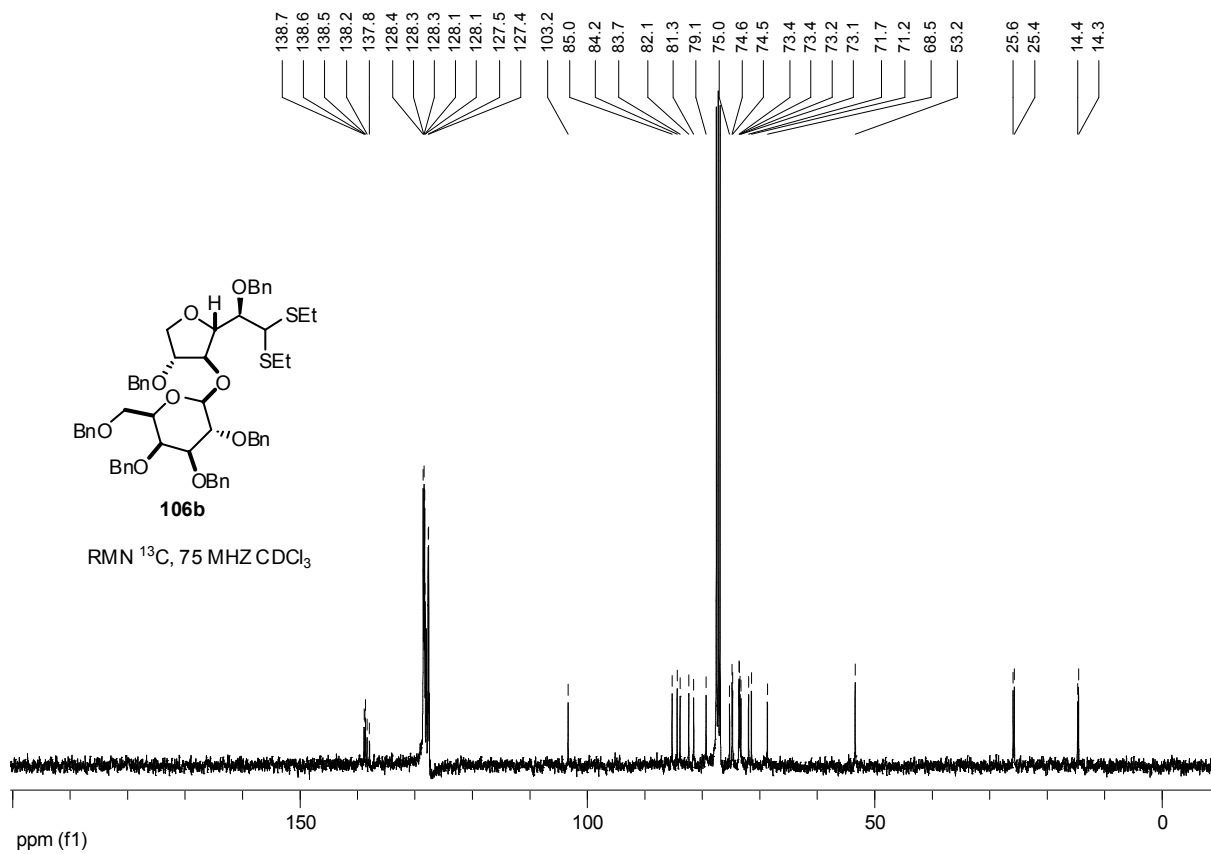
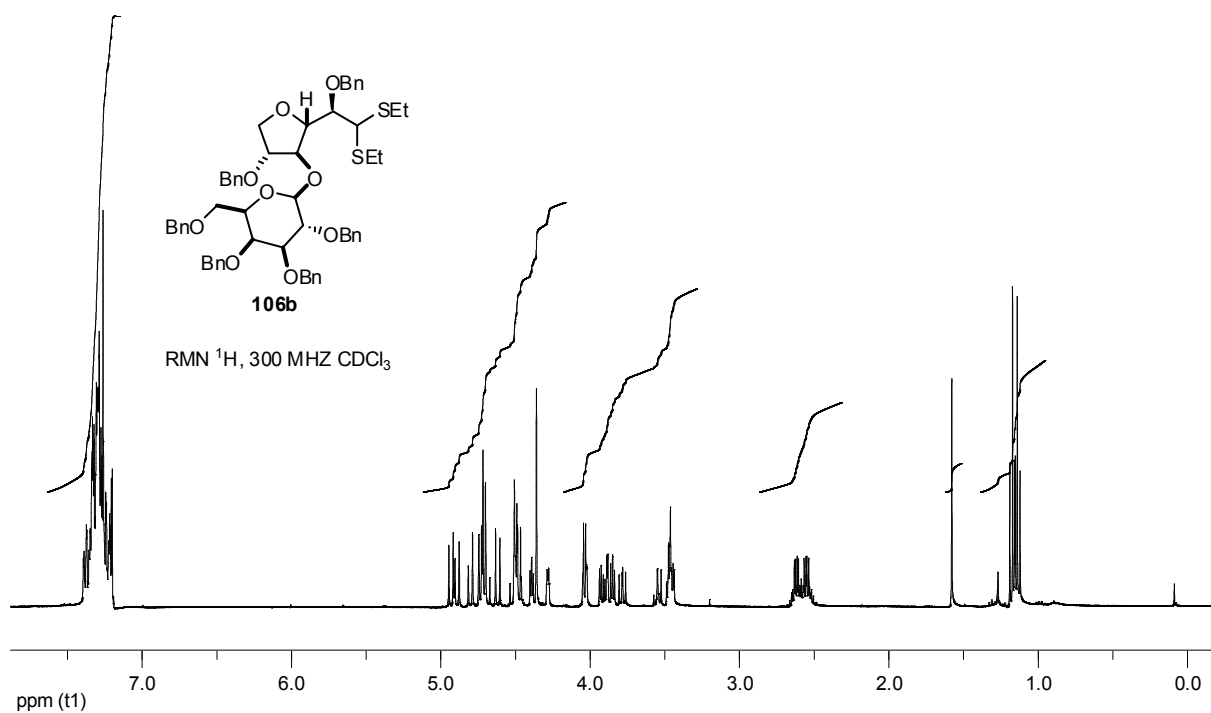
RMN ^1H , 300 MHz CDCl_3

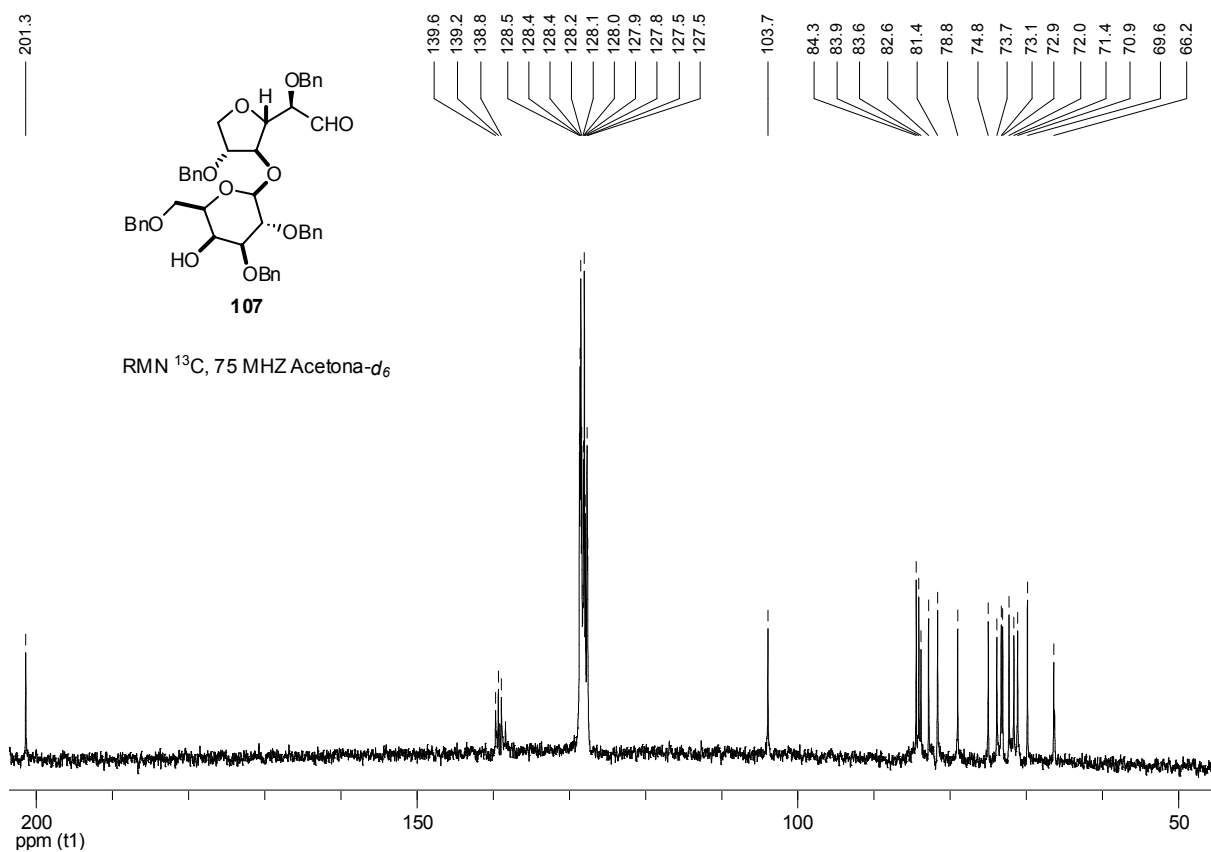
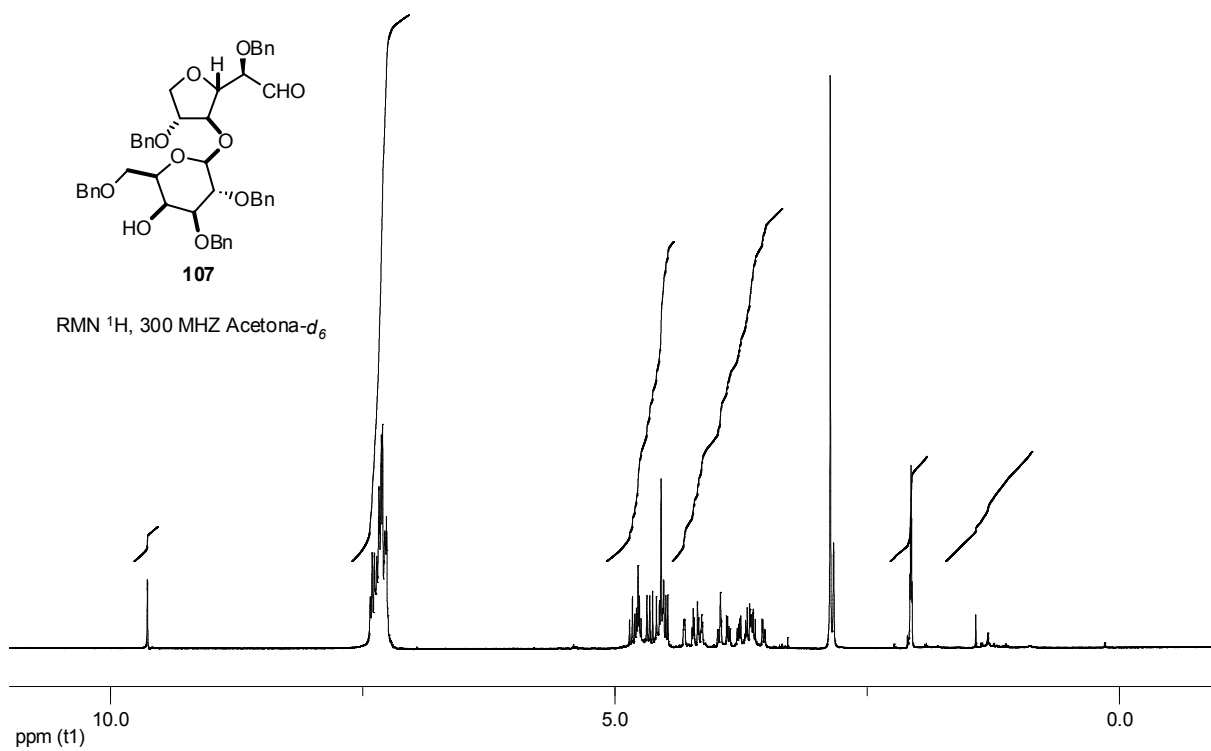


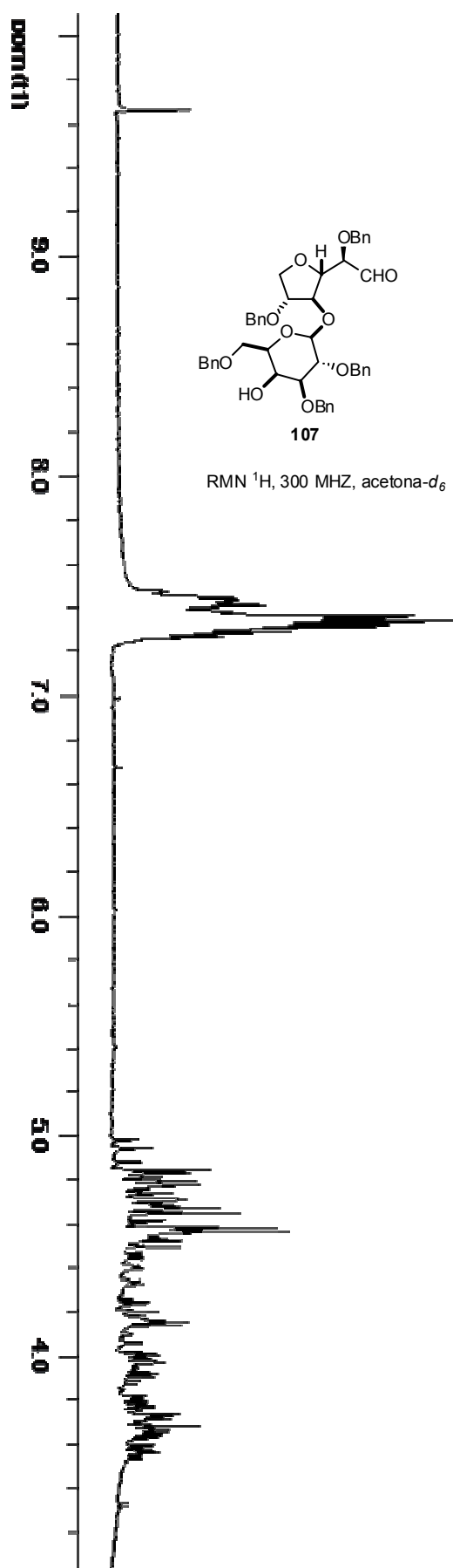
RMN ^{13}C , 75 MHz CDCl_3

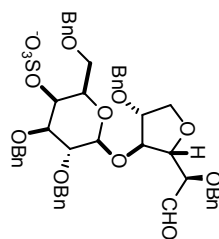






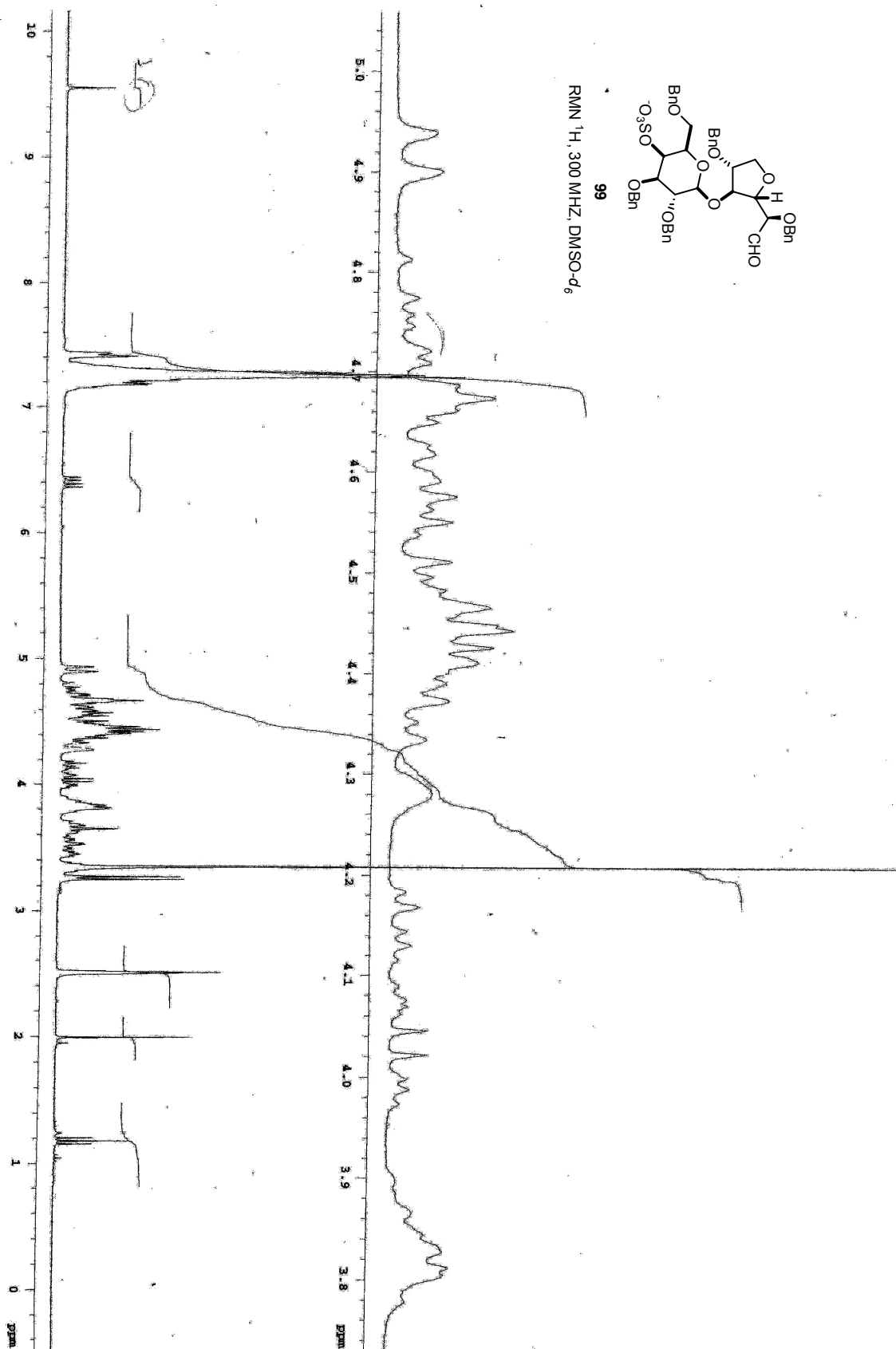


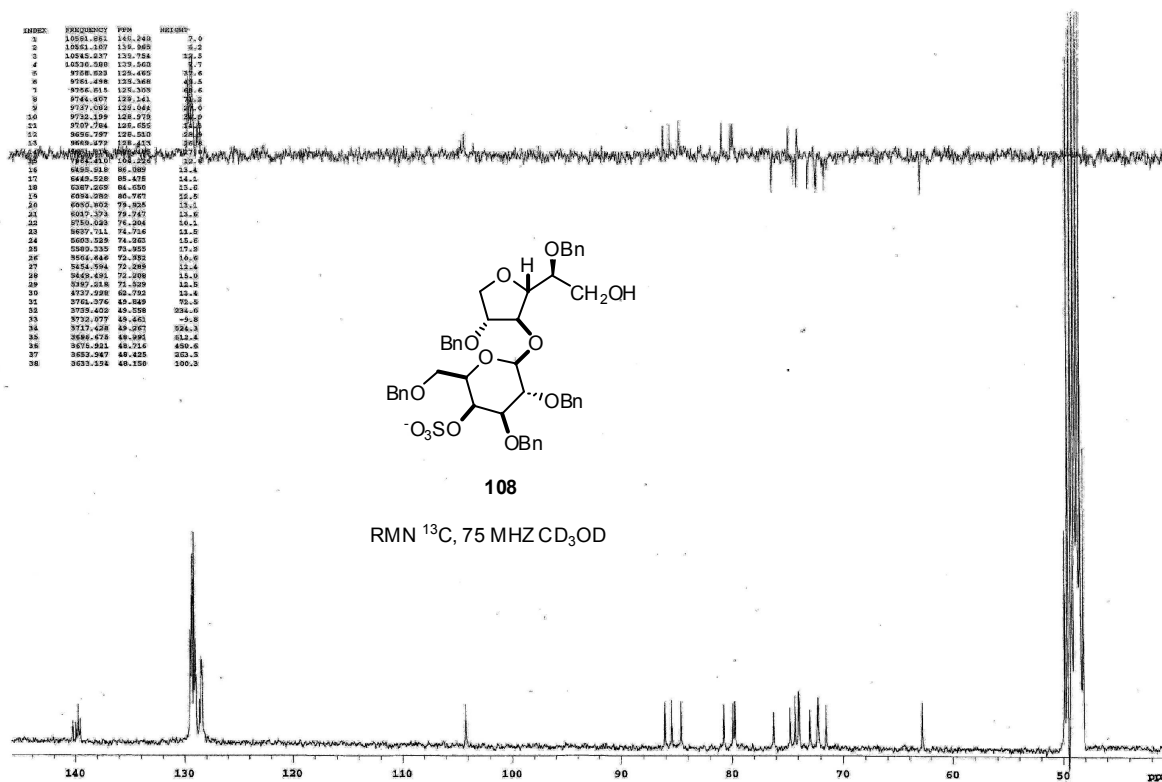
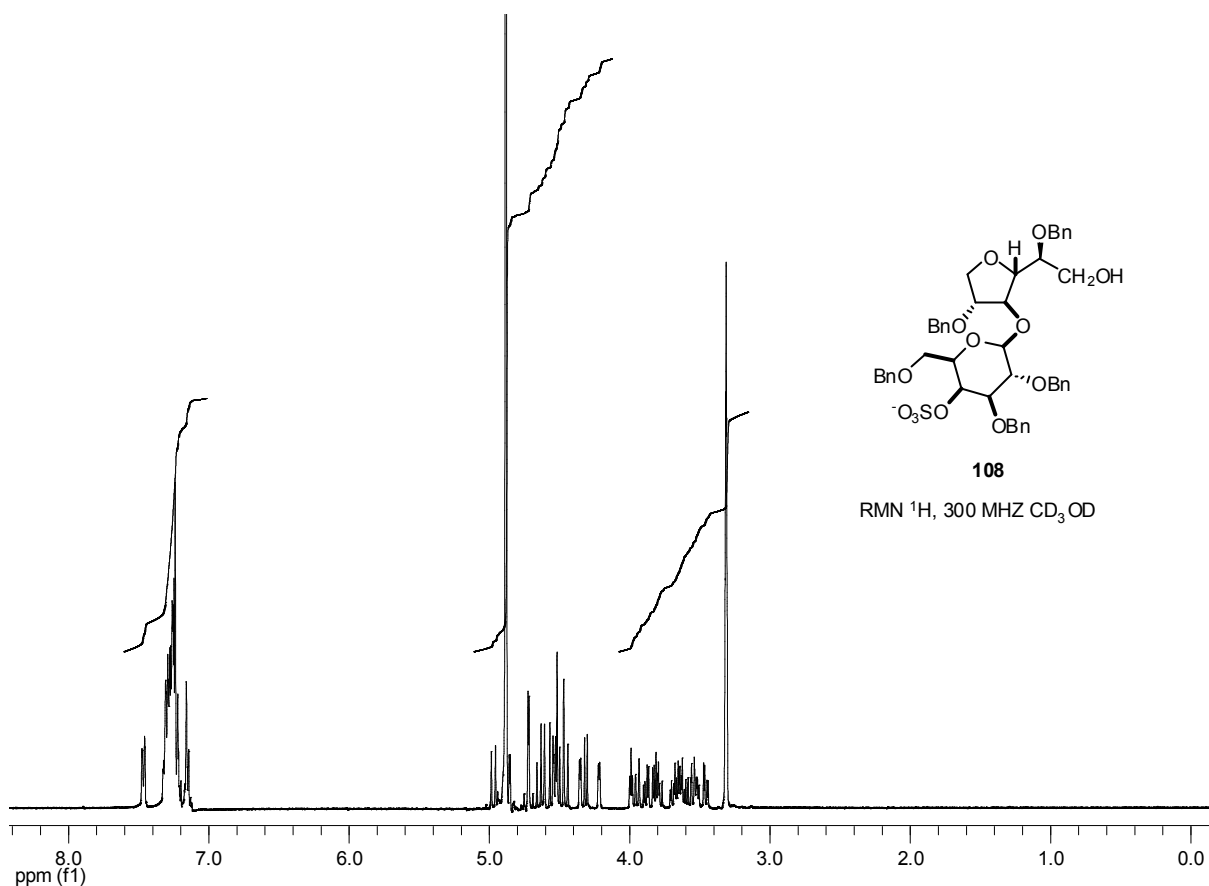


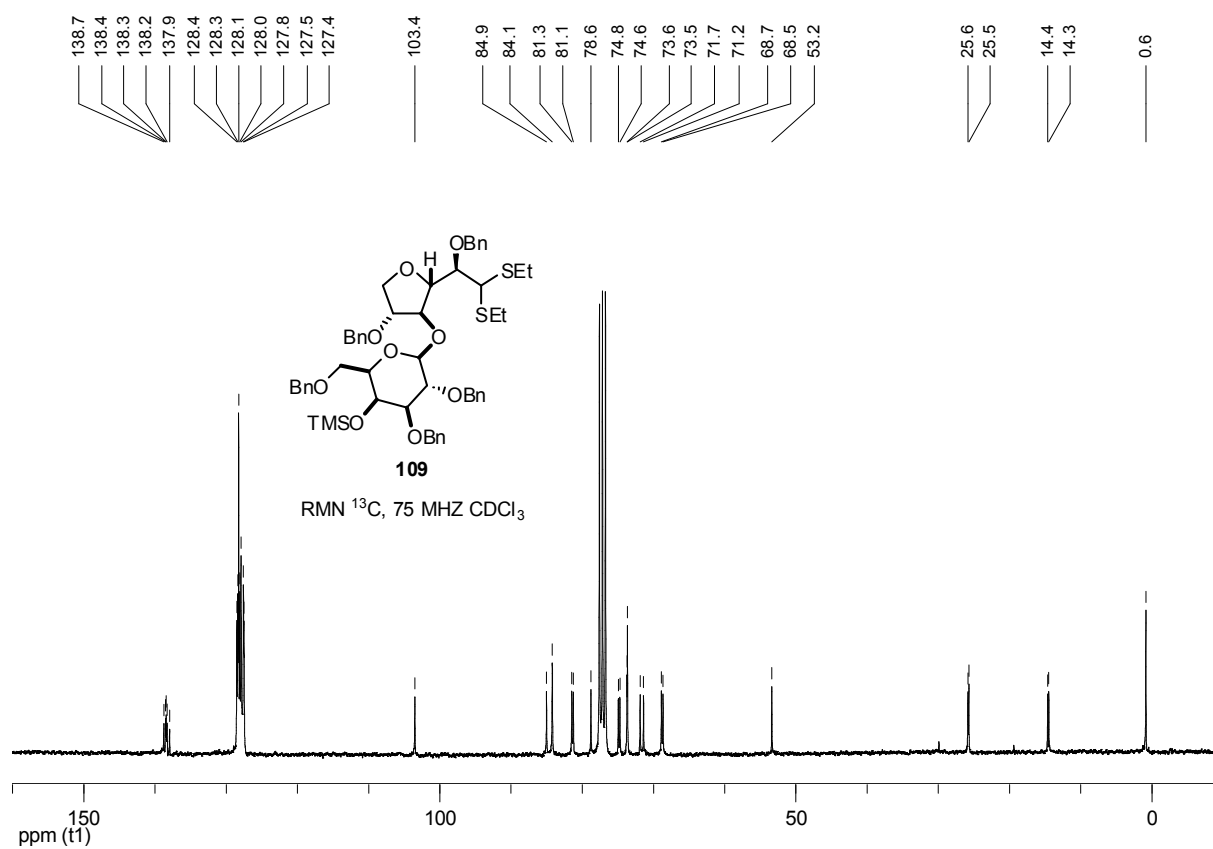
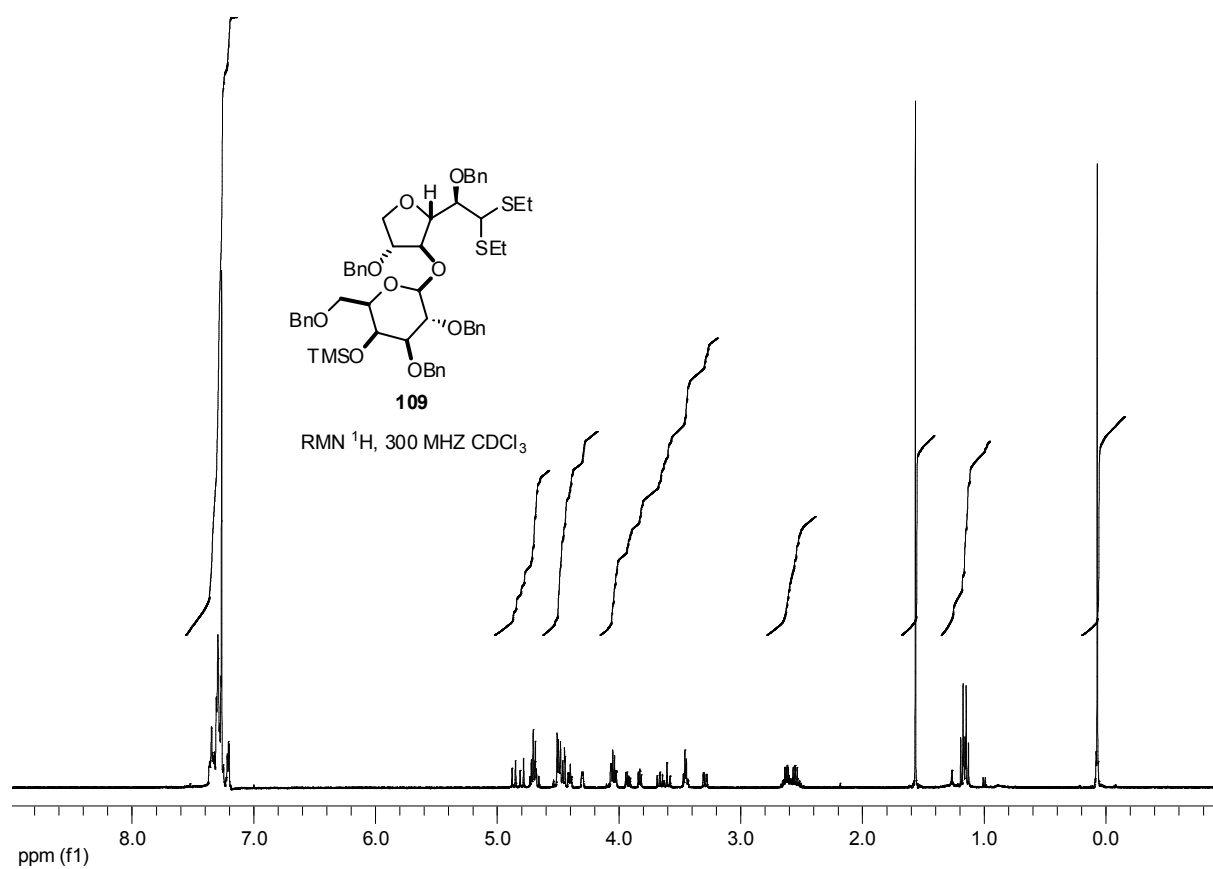


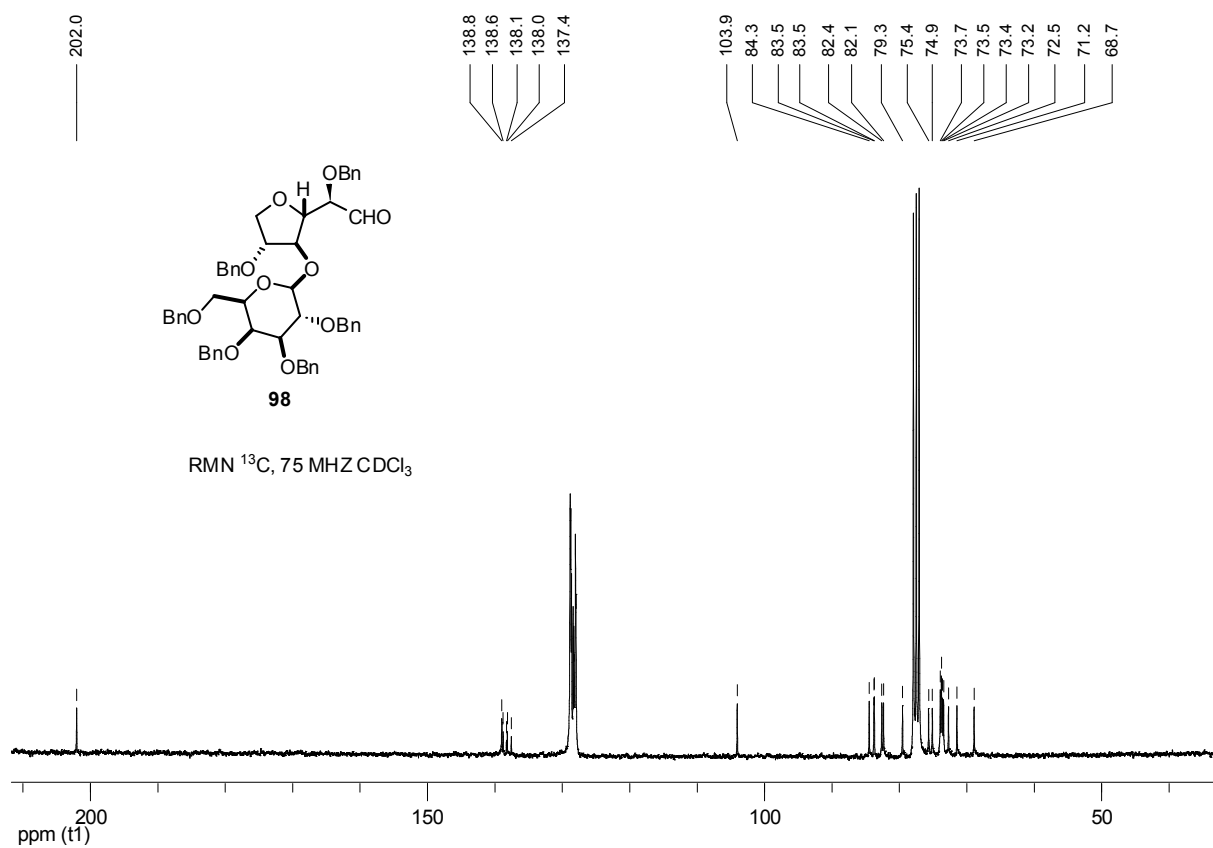
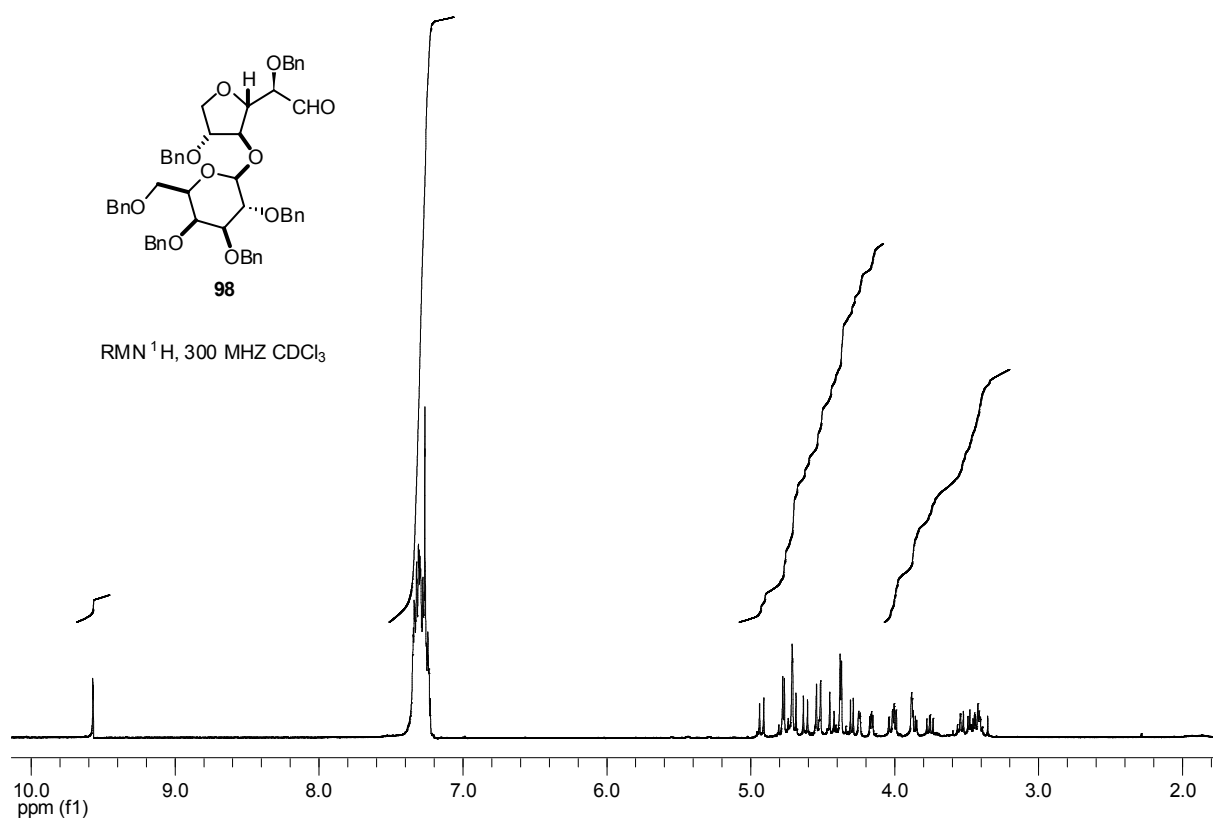
99

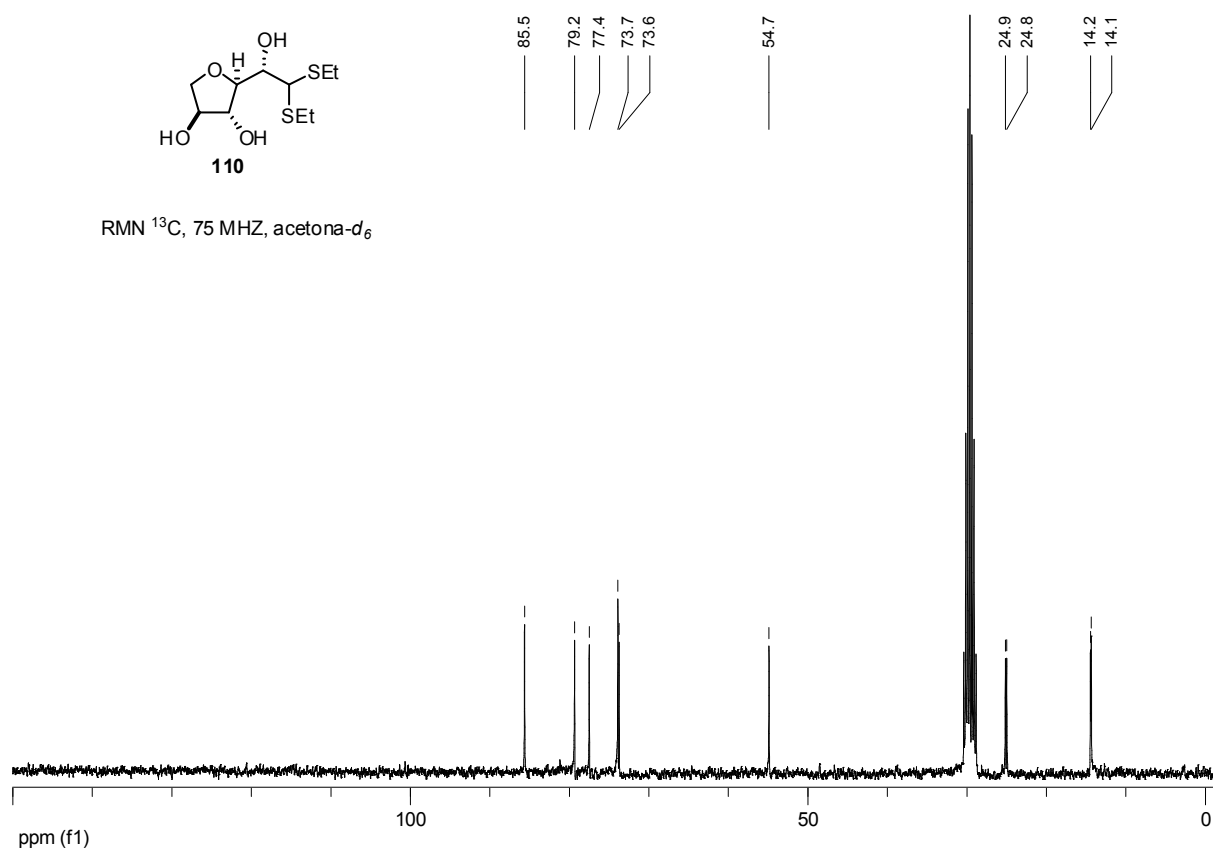
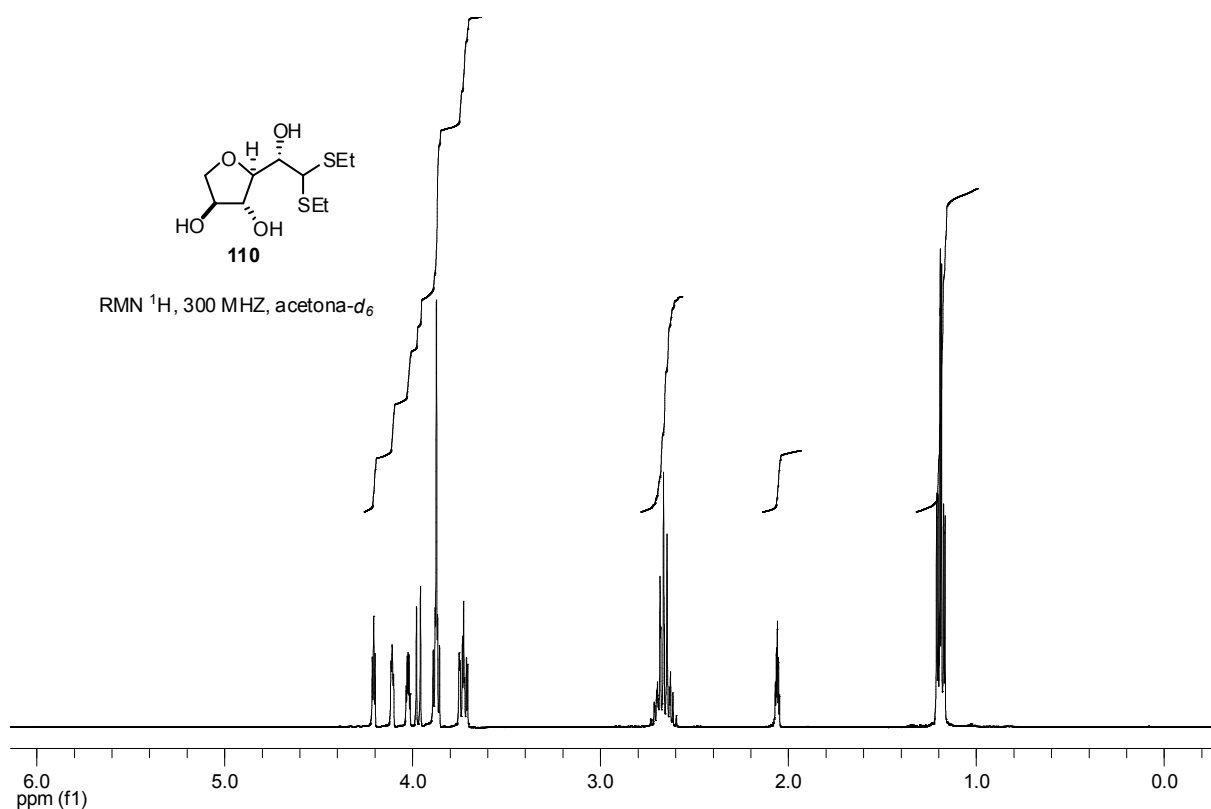
RMN ^1H , 300 MHz, DMSO- d_6

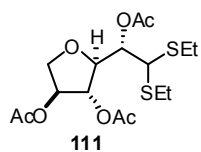
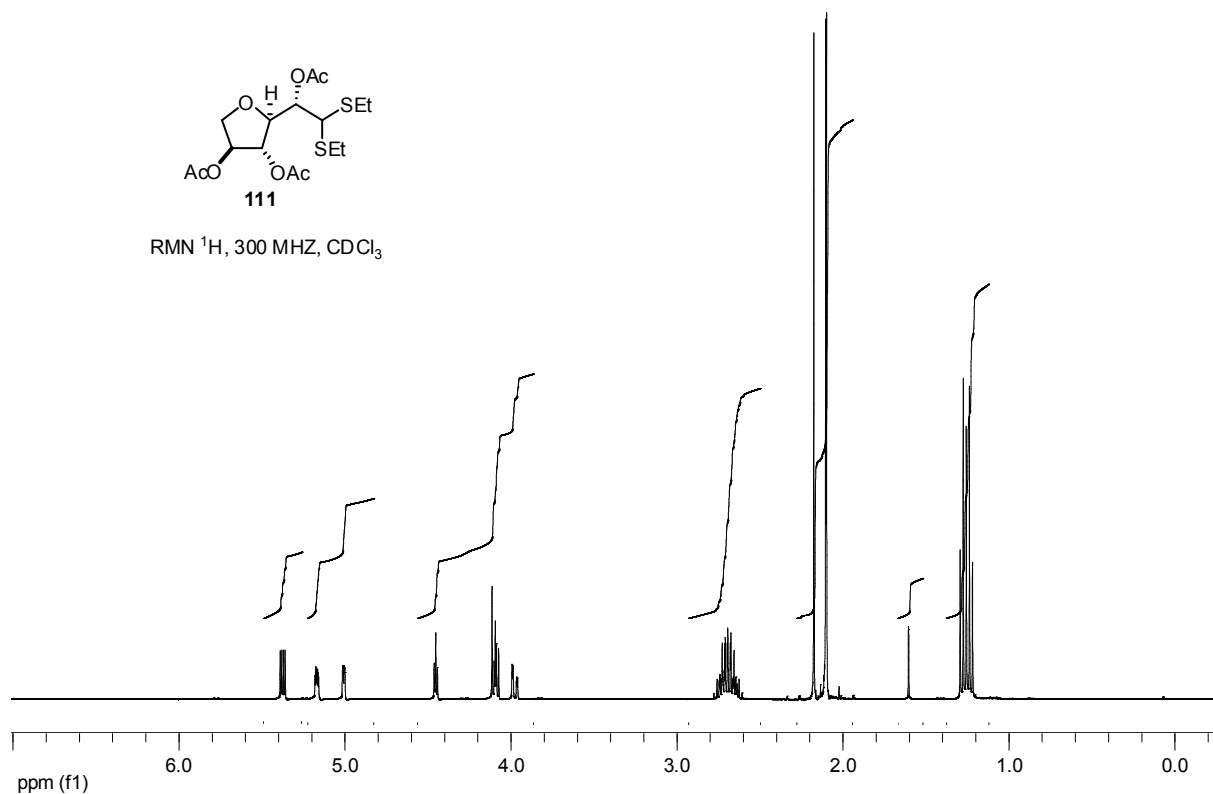
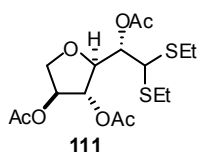
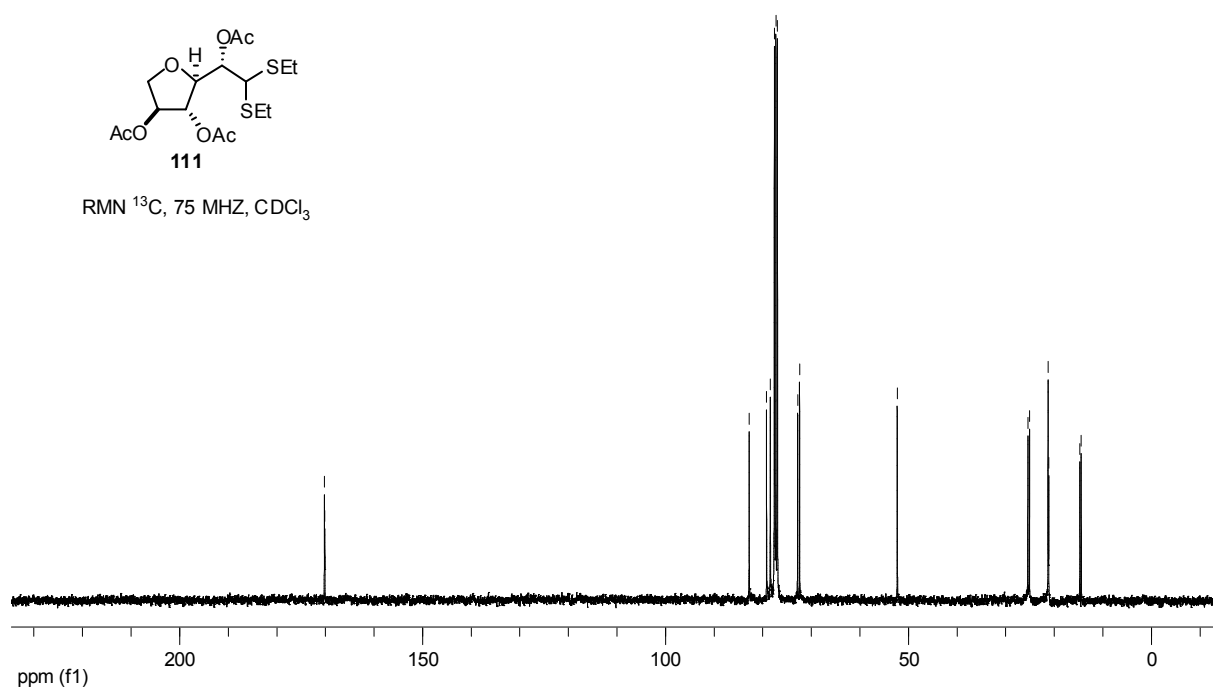


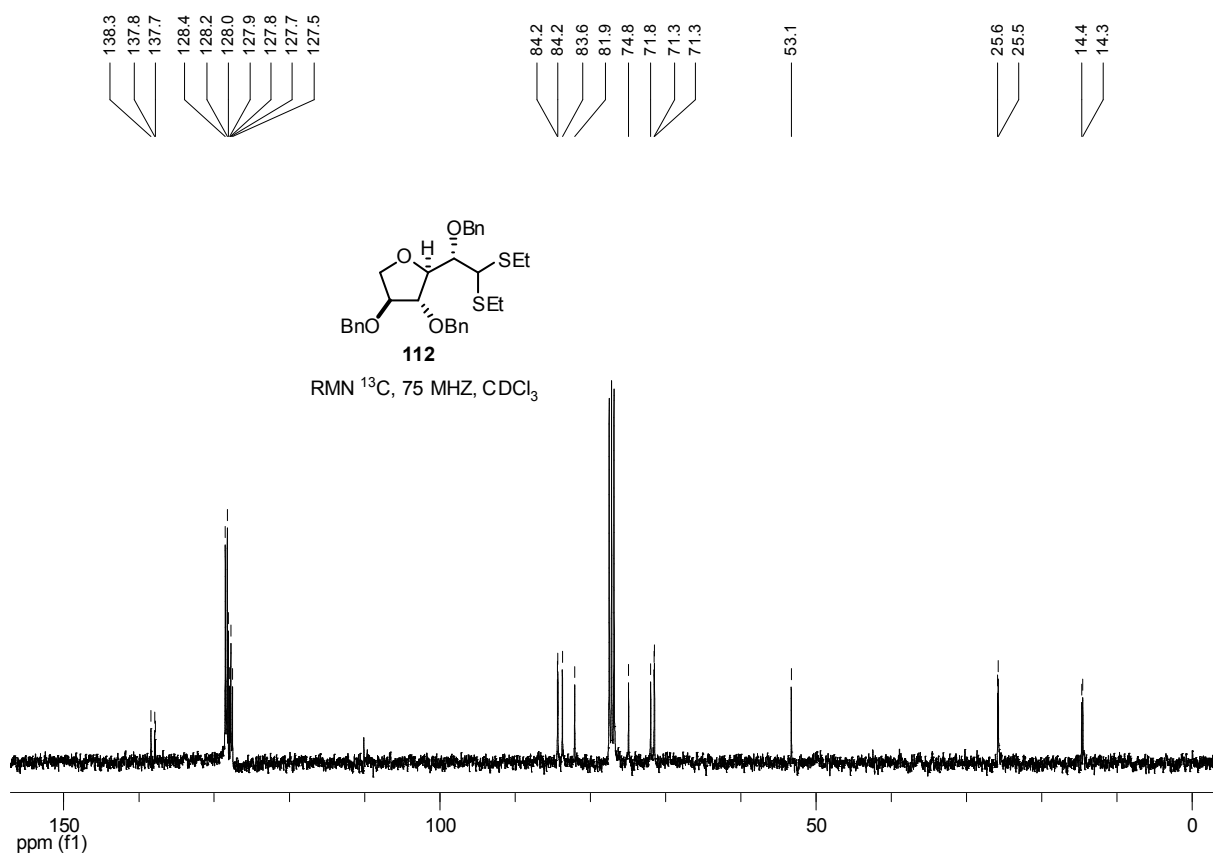
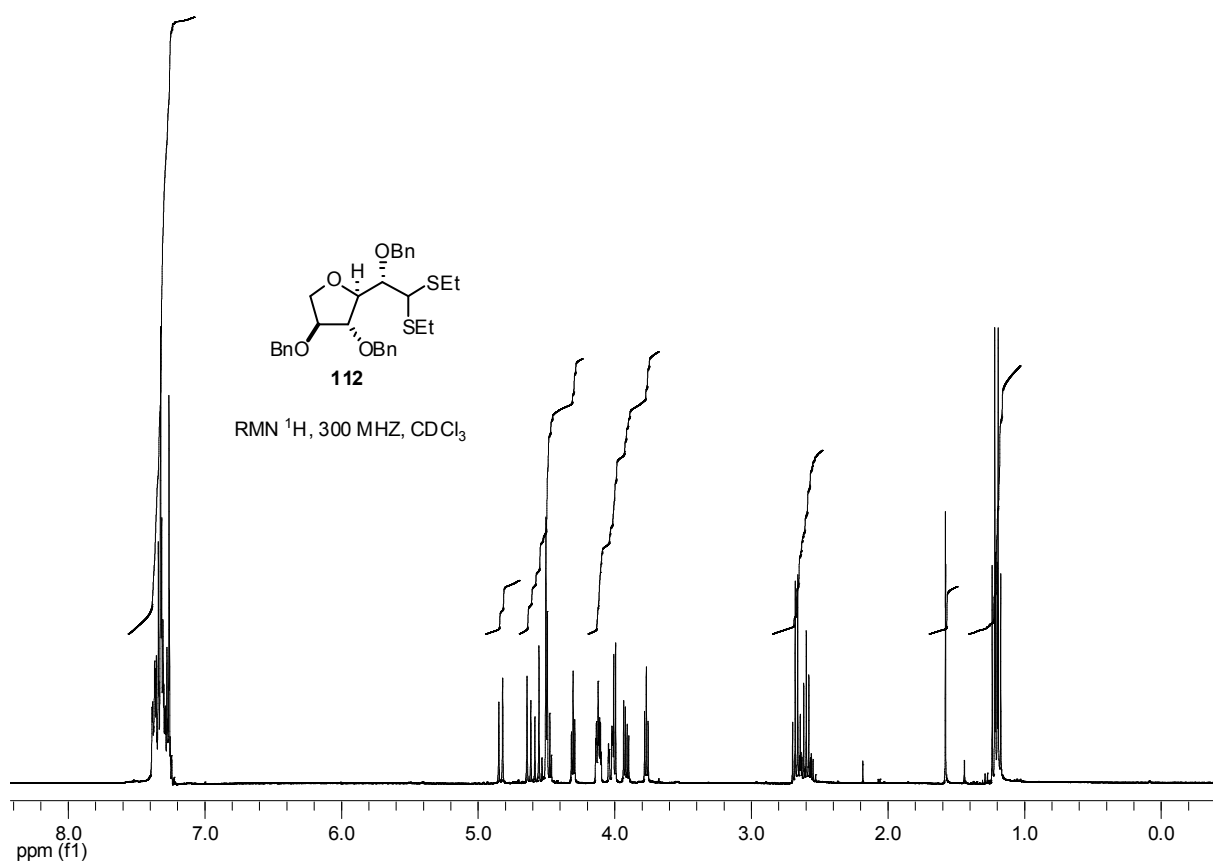


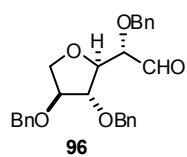




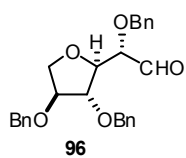
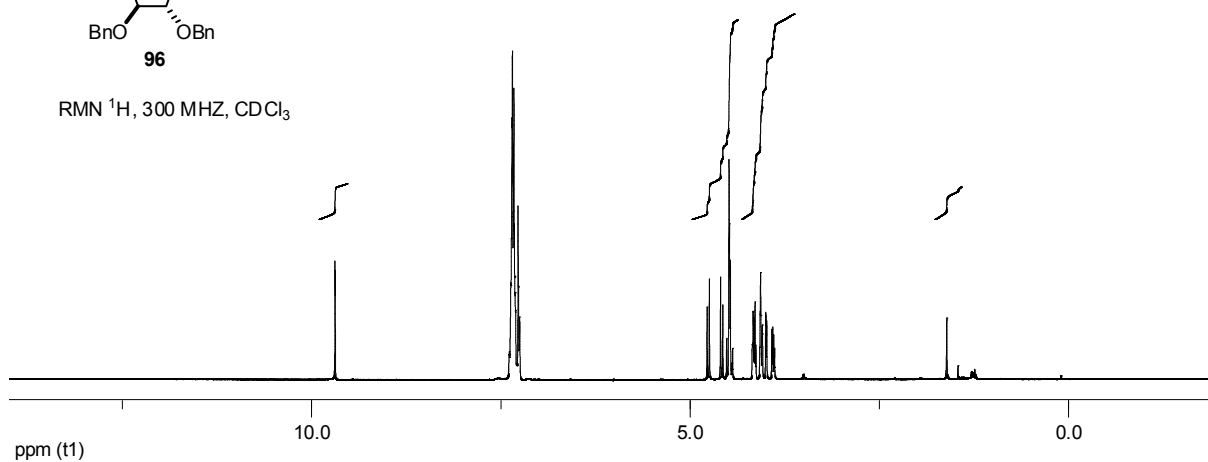


RMN ^1H , 300 MHz, CDCl_3 170.0
170.082.5
78.9
78.2
77.3
77.0
76.7
72.5
72.1
52.025.1
24.7
20.9
20.8
14.4
14.1RMN ^{13}C , 75 MHz, CDCl_3 

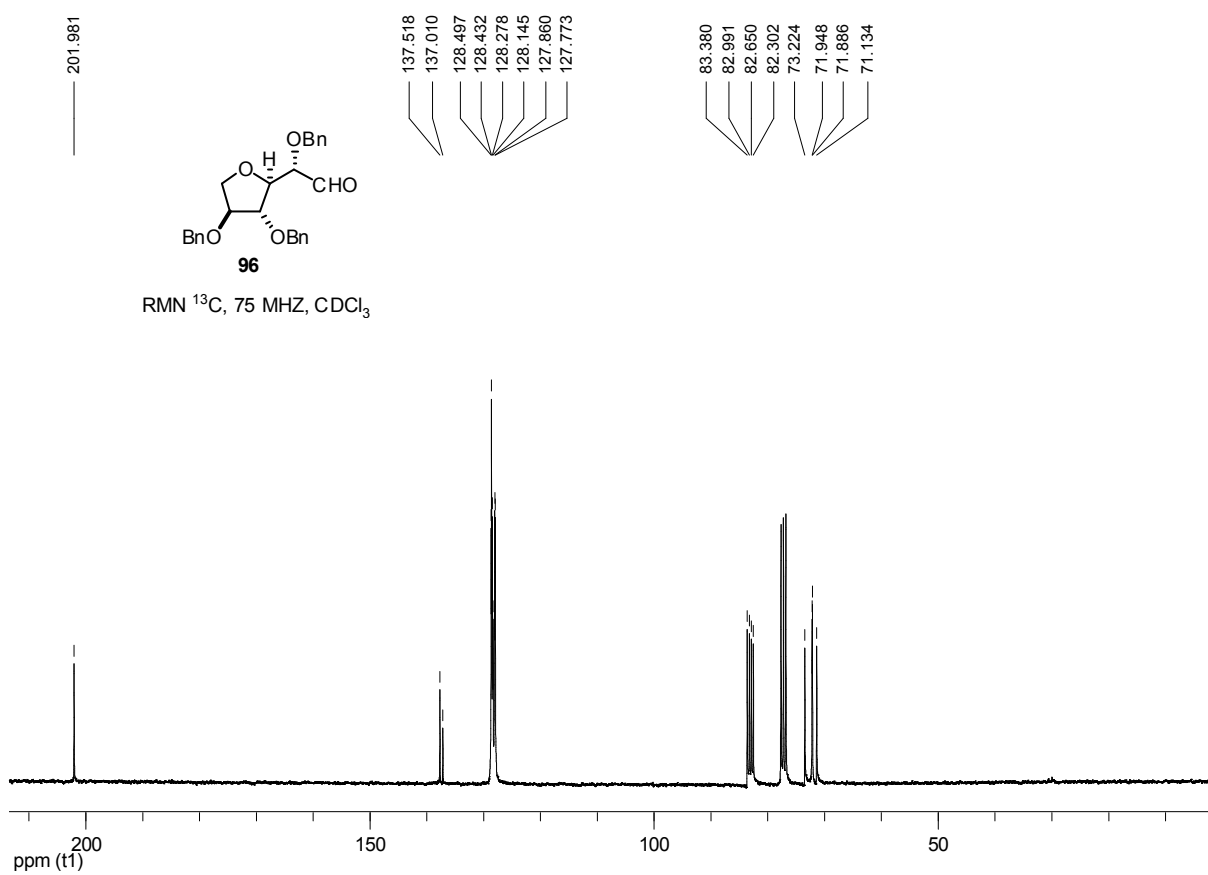


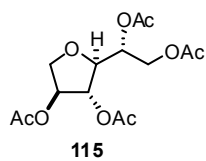
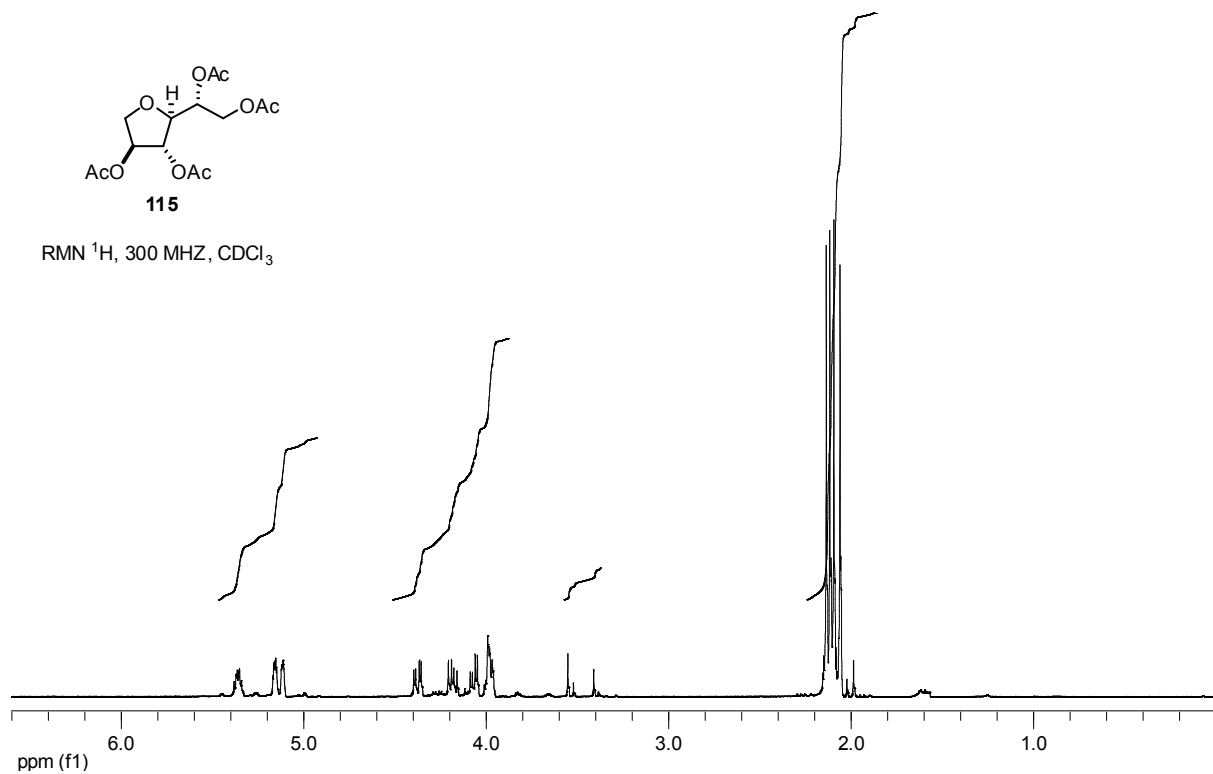
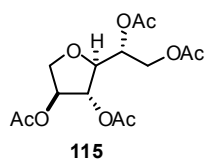
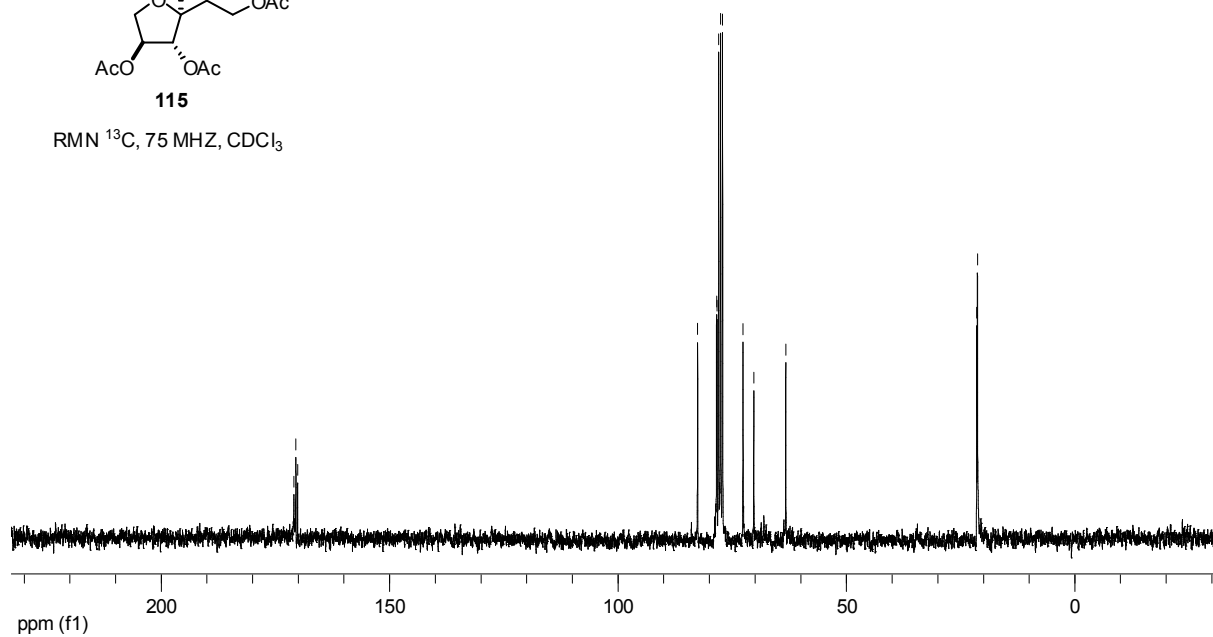


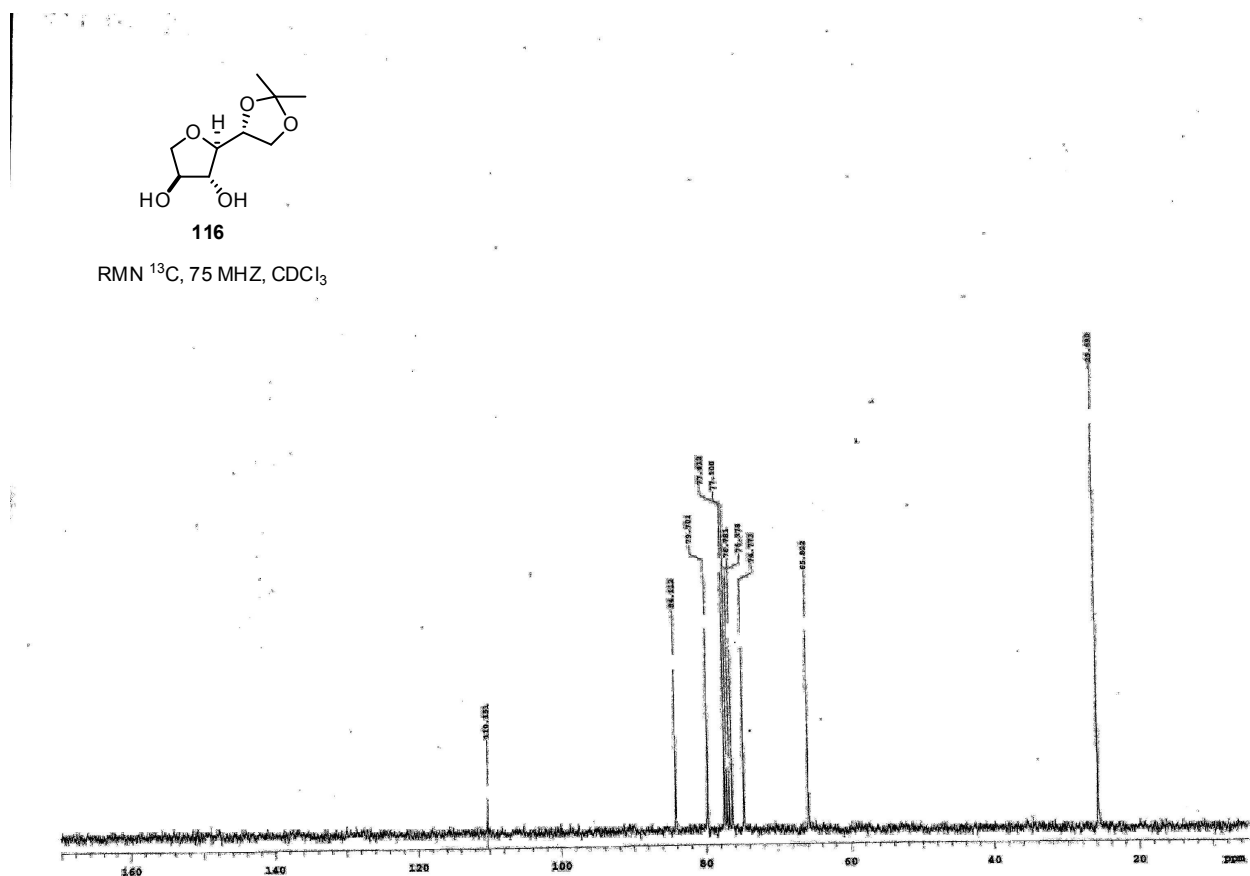
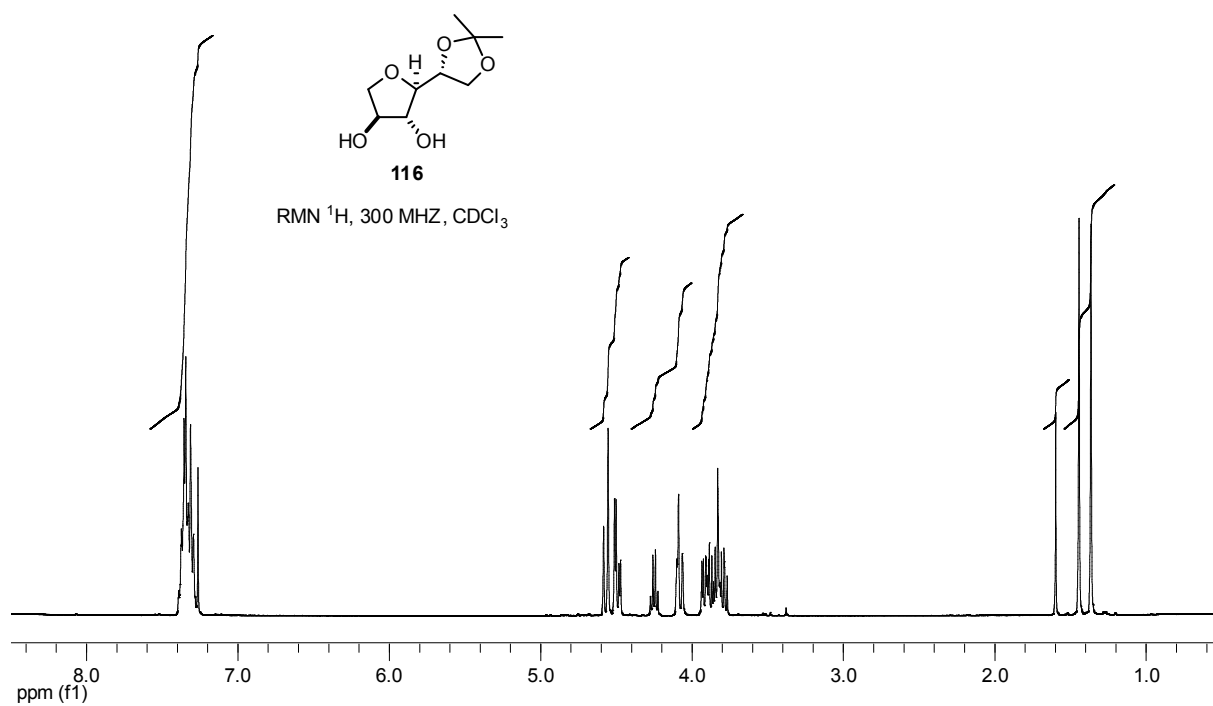
RMN ^1H , 300 MHz, CDCl_3

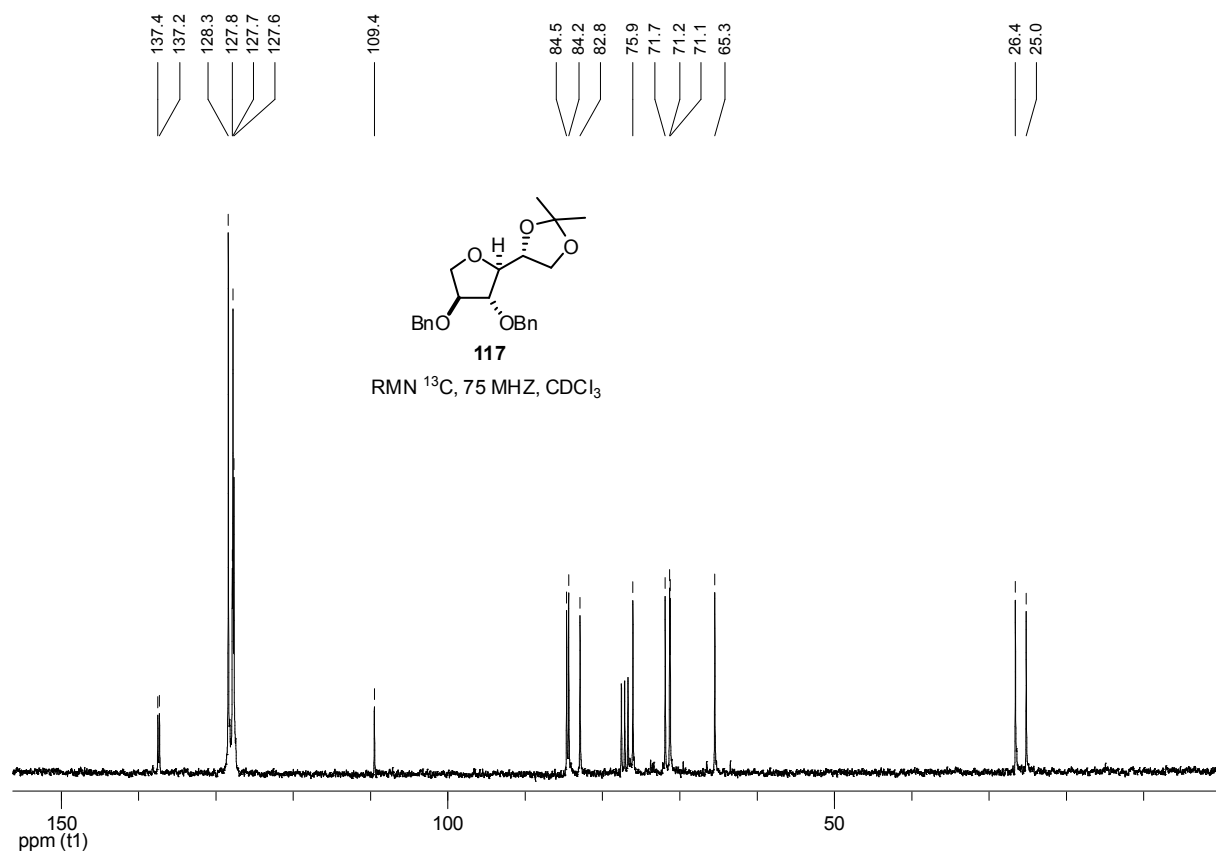
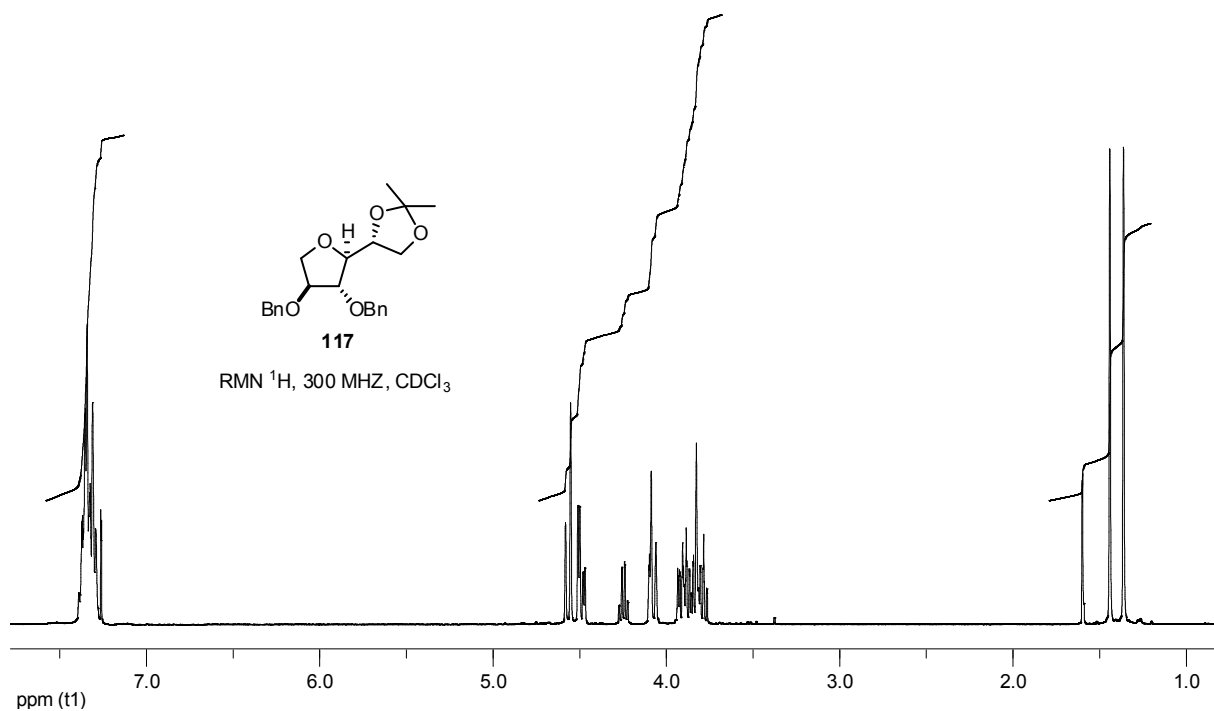


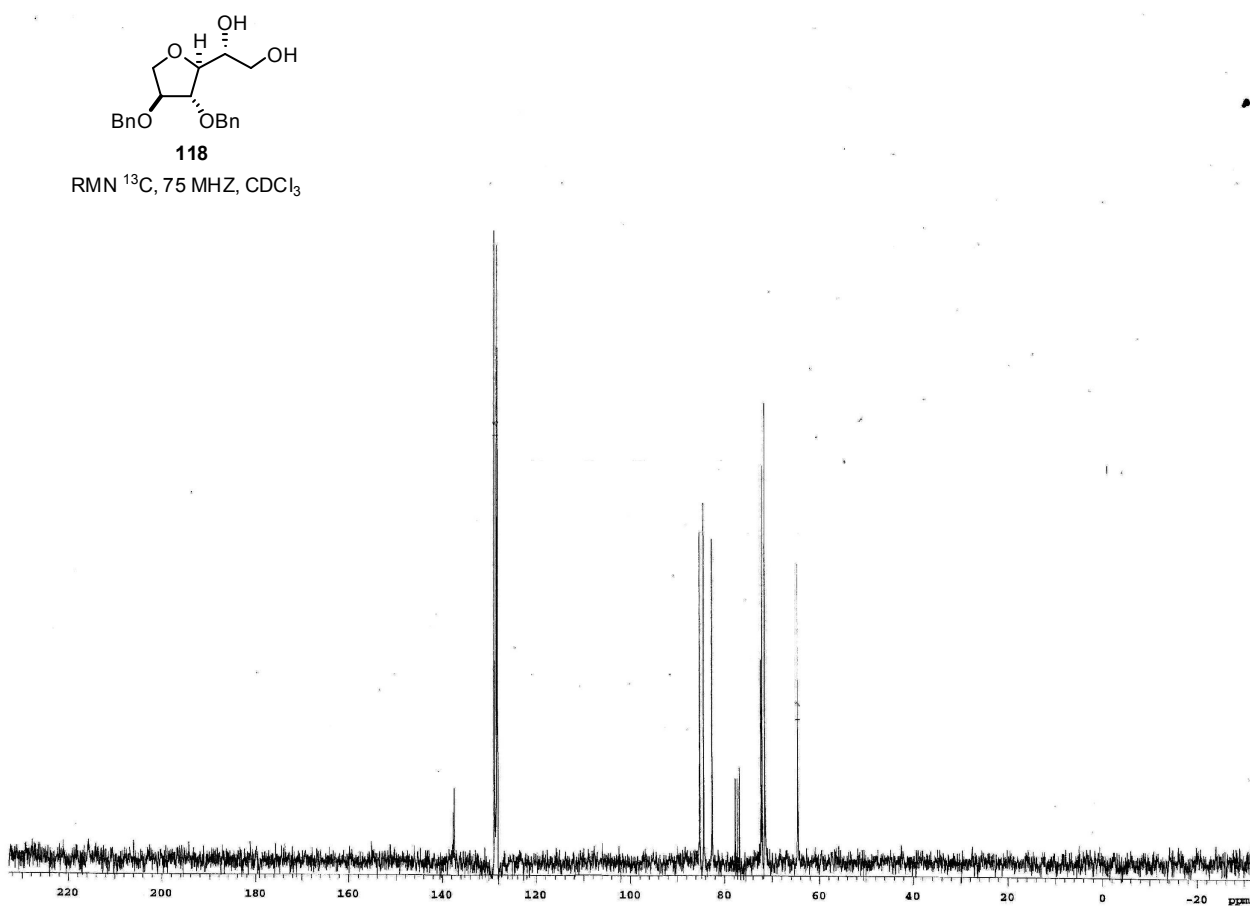
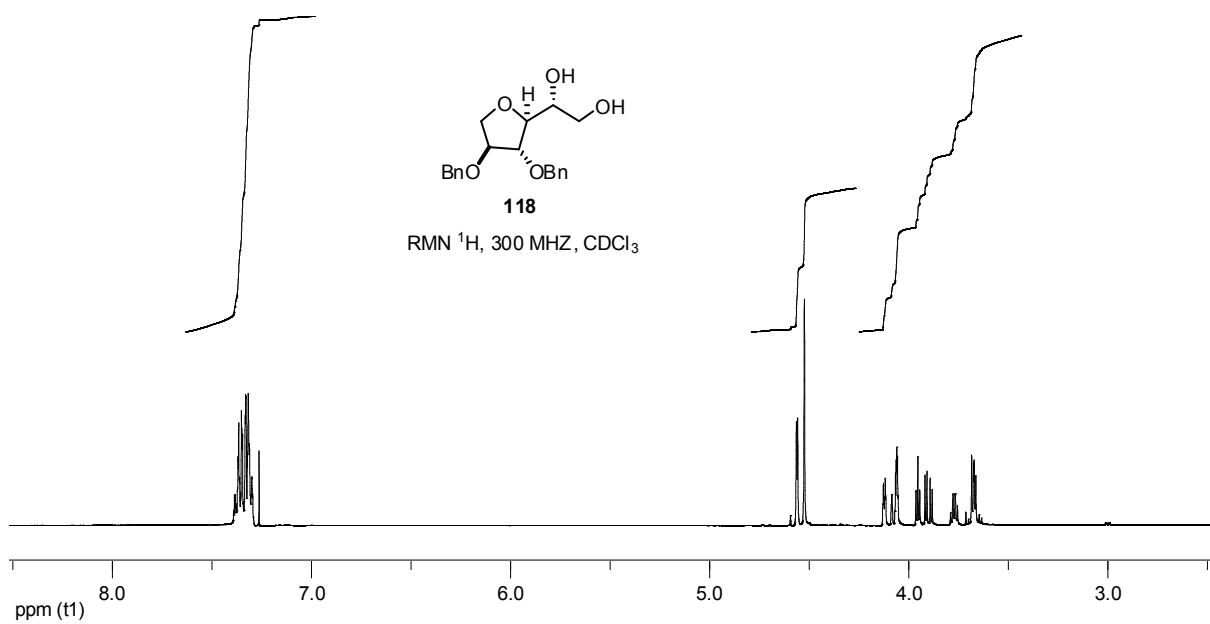
RMN ^{13}C , 75 MHz, CDCl_3

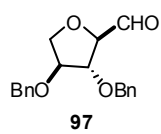


RMN ^1H , 300 MHz, CDCl_3 170.8
170.4
170.082.3
78.1
78.0
77.7
77.3
76.8
72.4
70.0
63.021.1
21.0RMN ^{13}C , 75 MHz, CDCl_3 

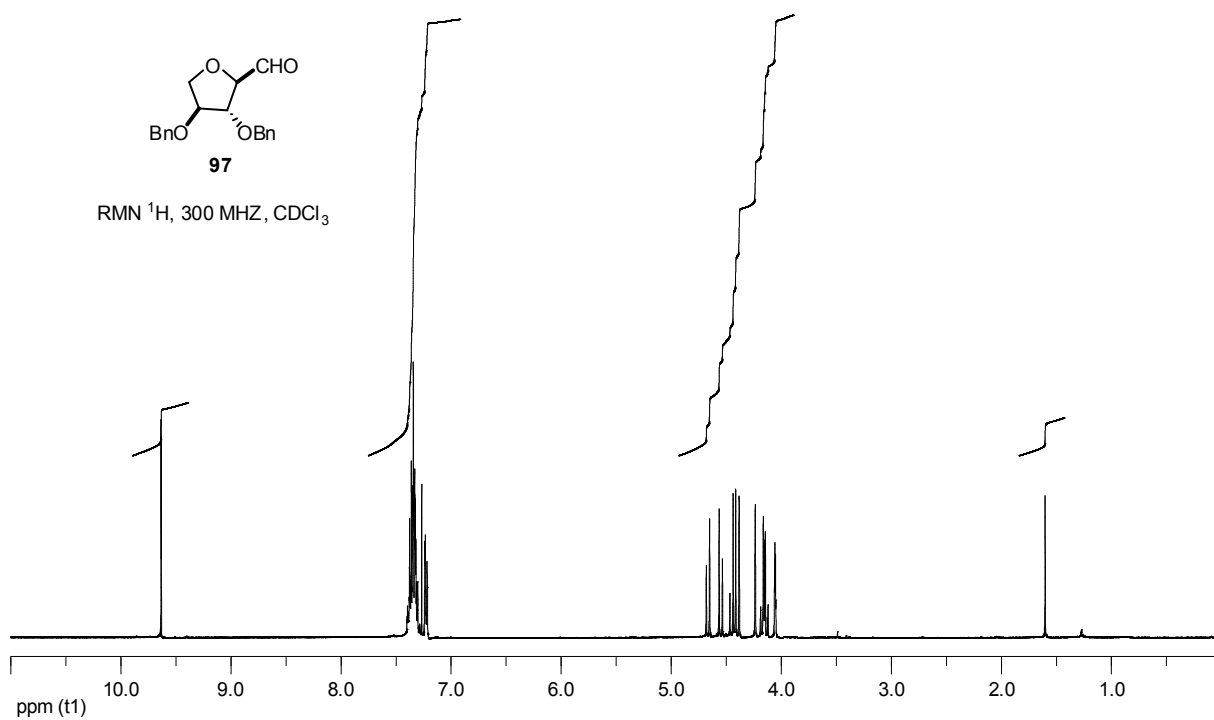








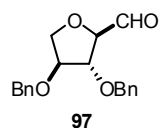
RMN ^1H , 300 MHz, CDCl_3



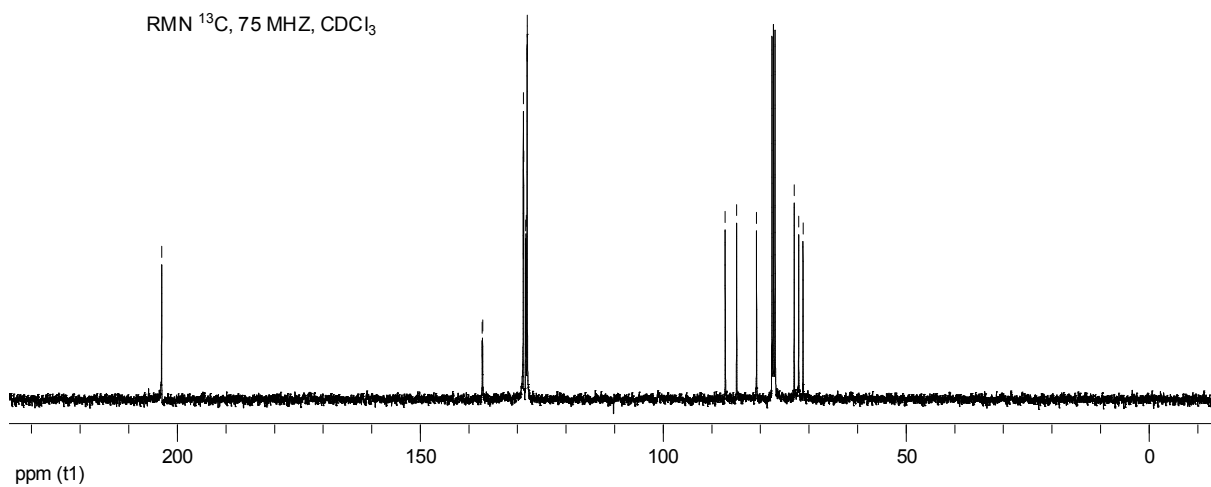
203.1

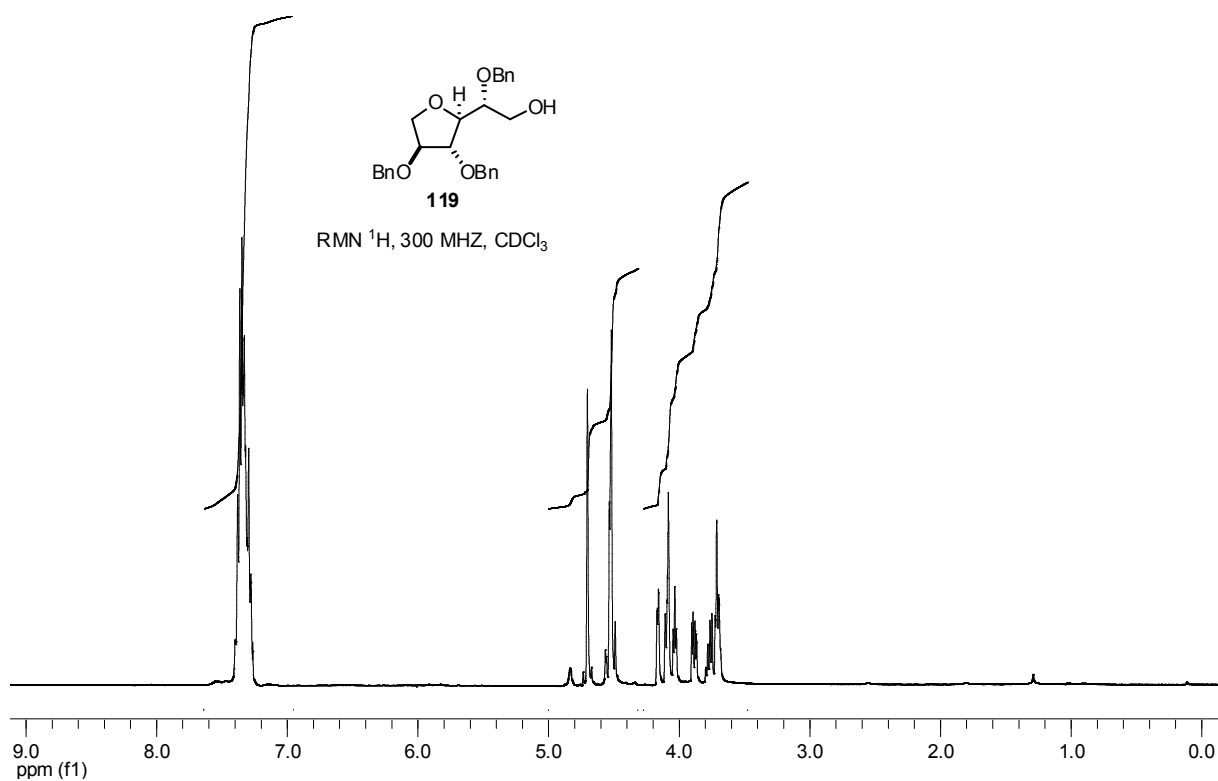
137.0
137.0
128.6
128.5
128.1
128.0
127.8

87.0
84.6
80.5
72.8
71.8
70.9

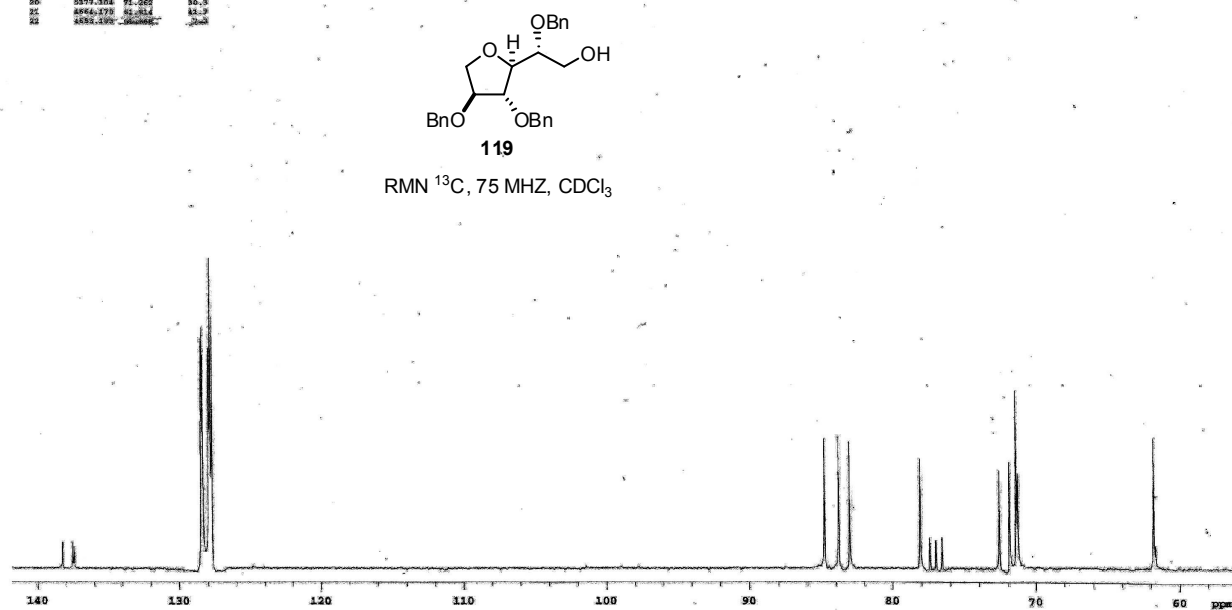


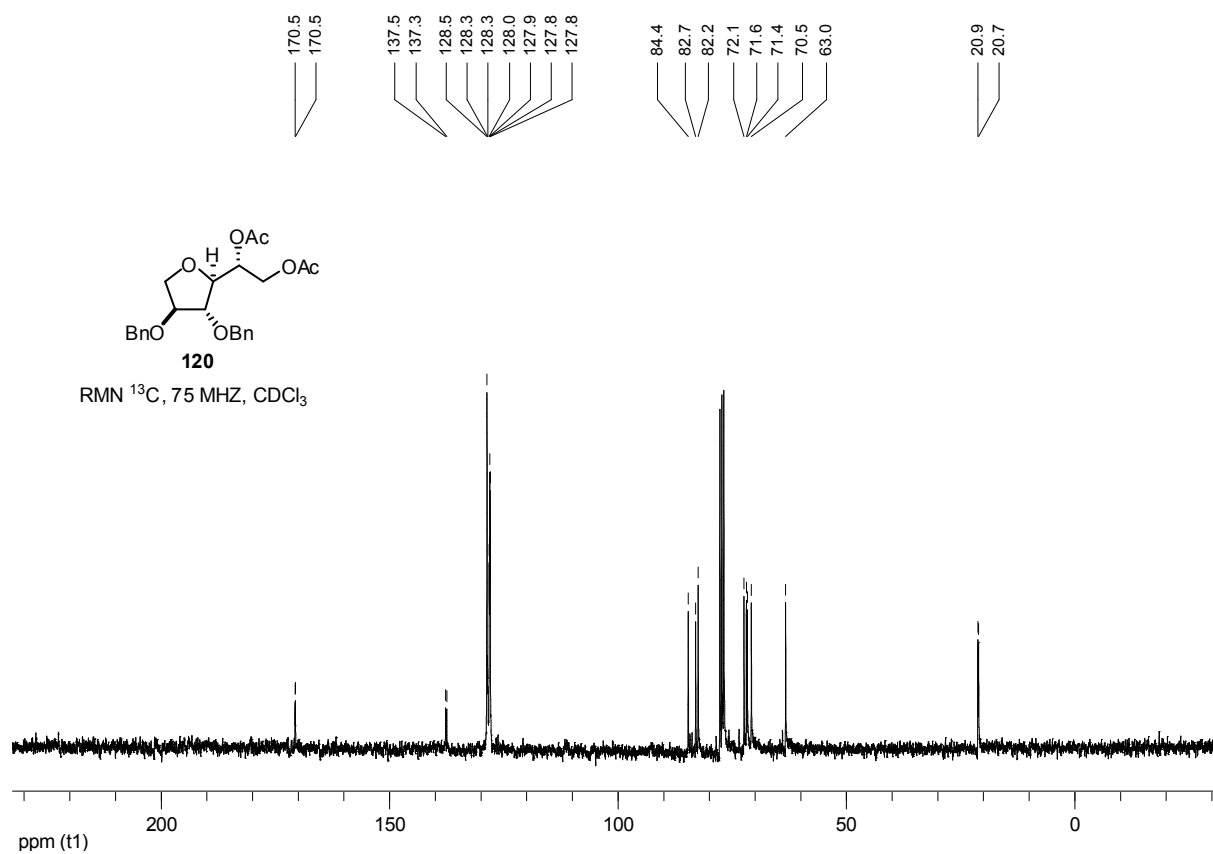
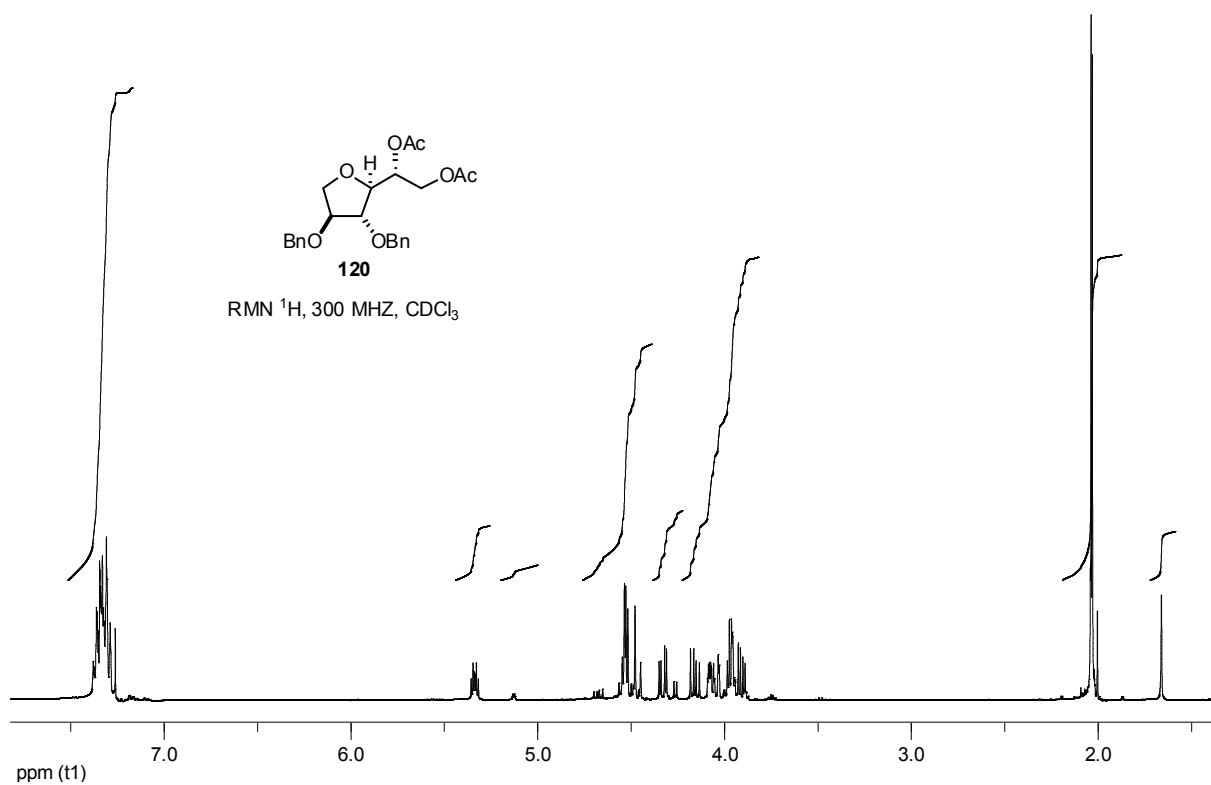
RMN ^{13}C , 75 MHz, CDCl_3

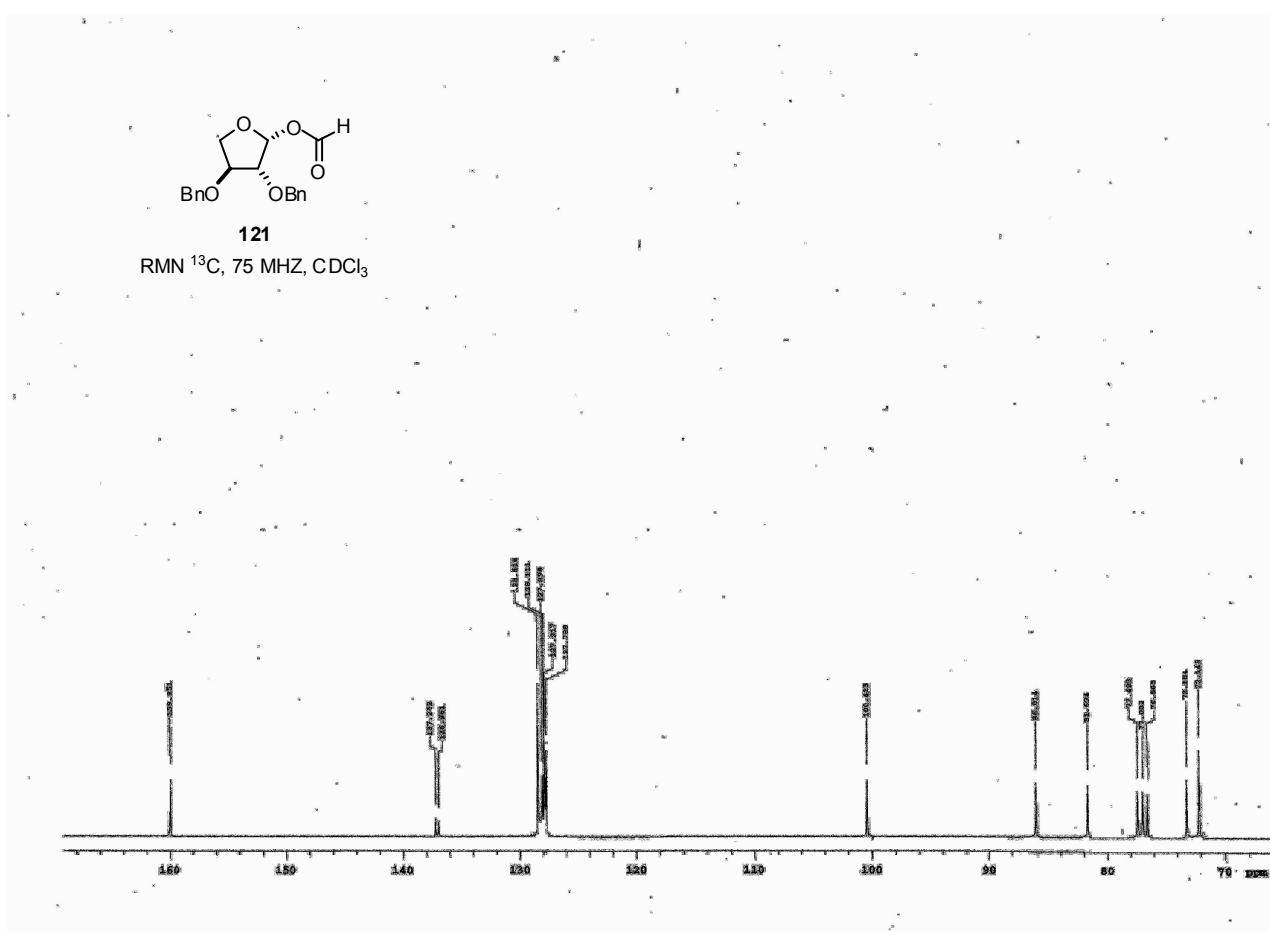
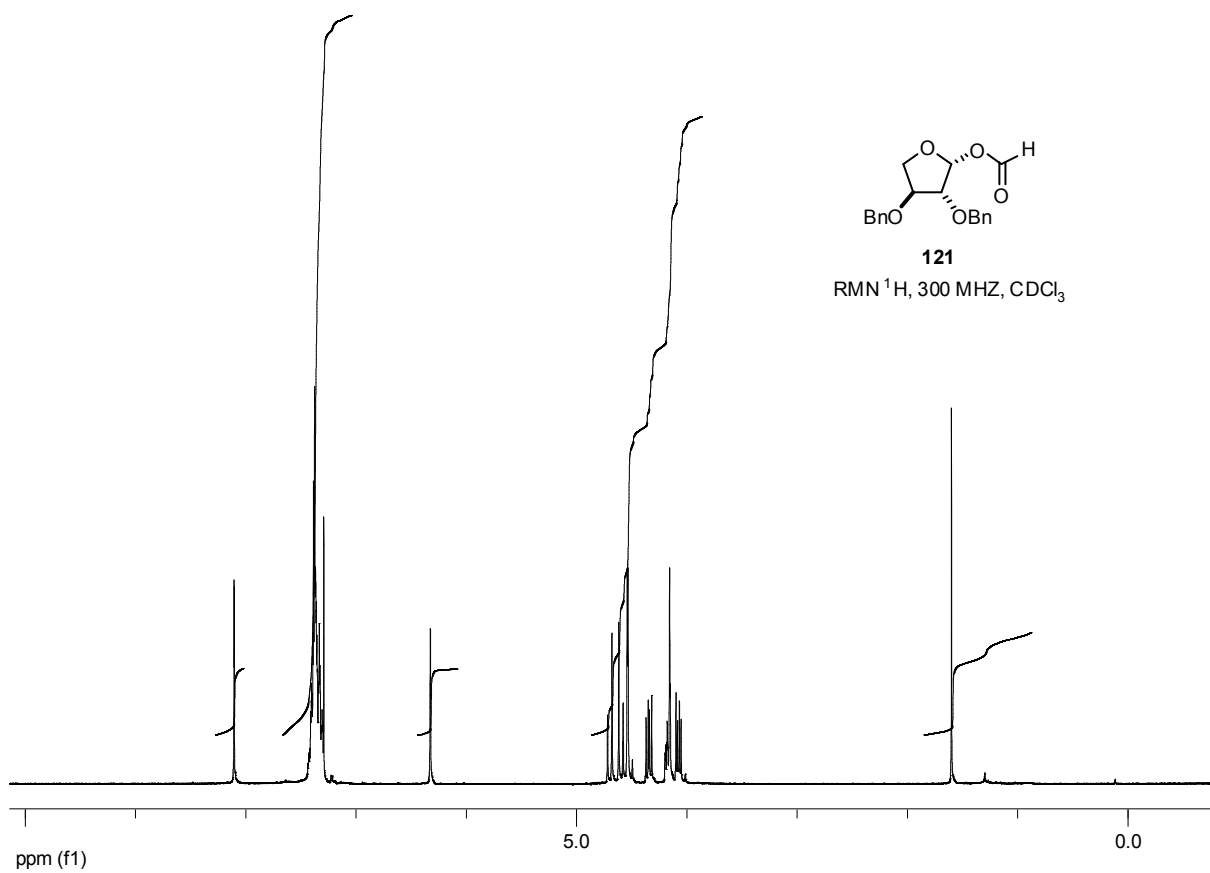


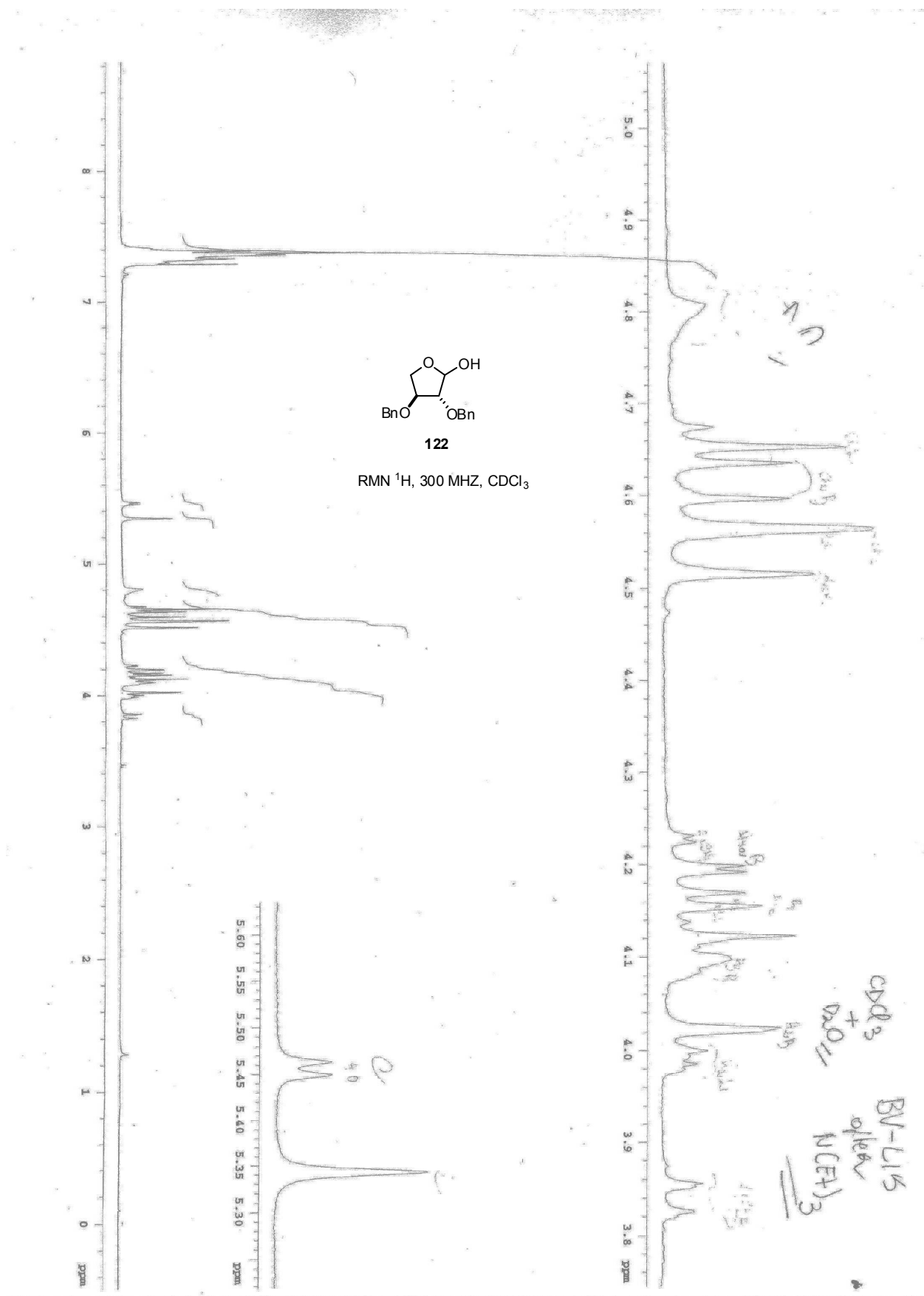


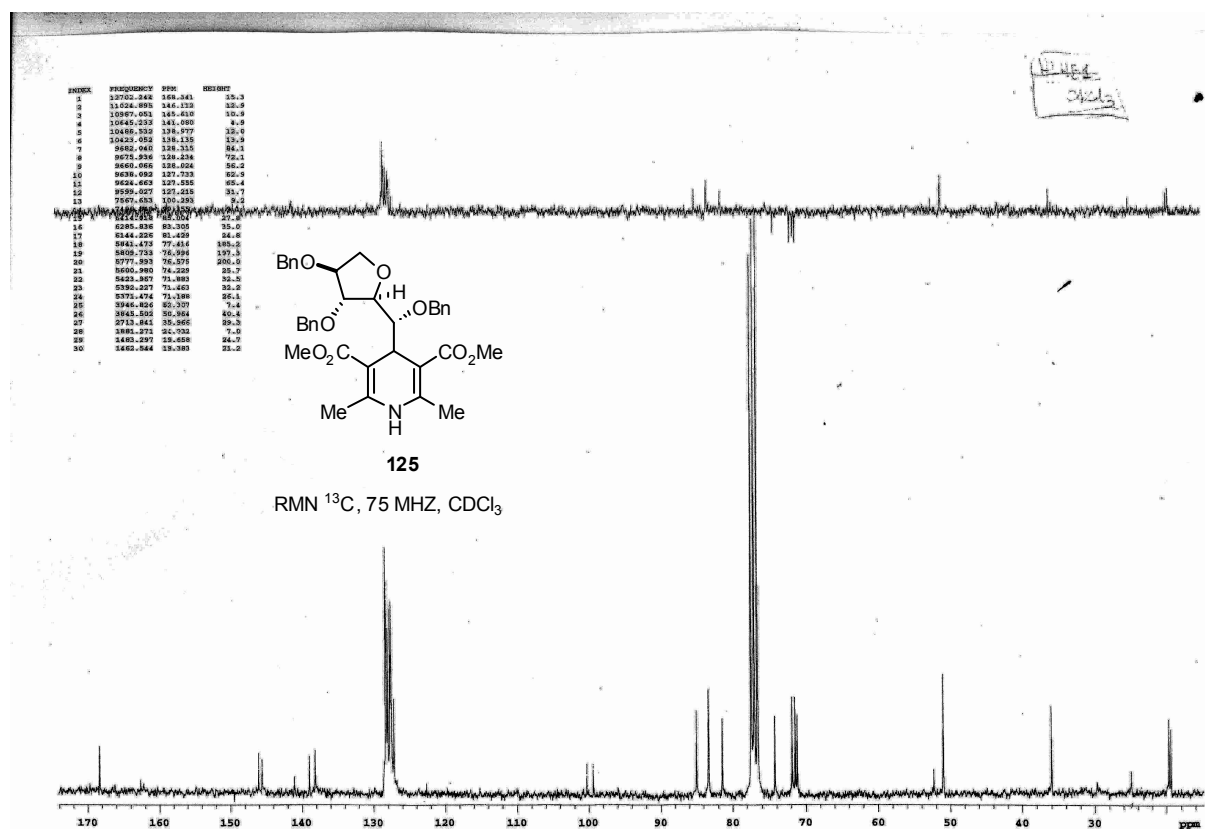
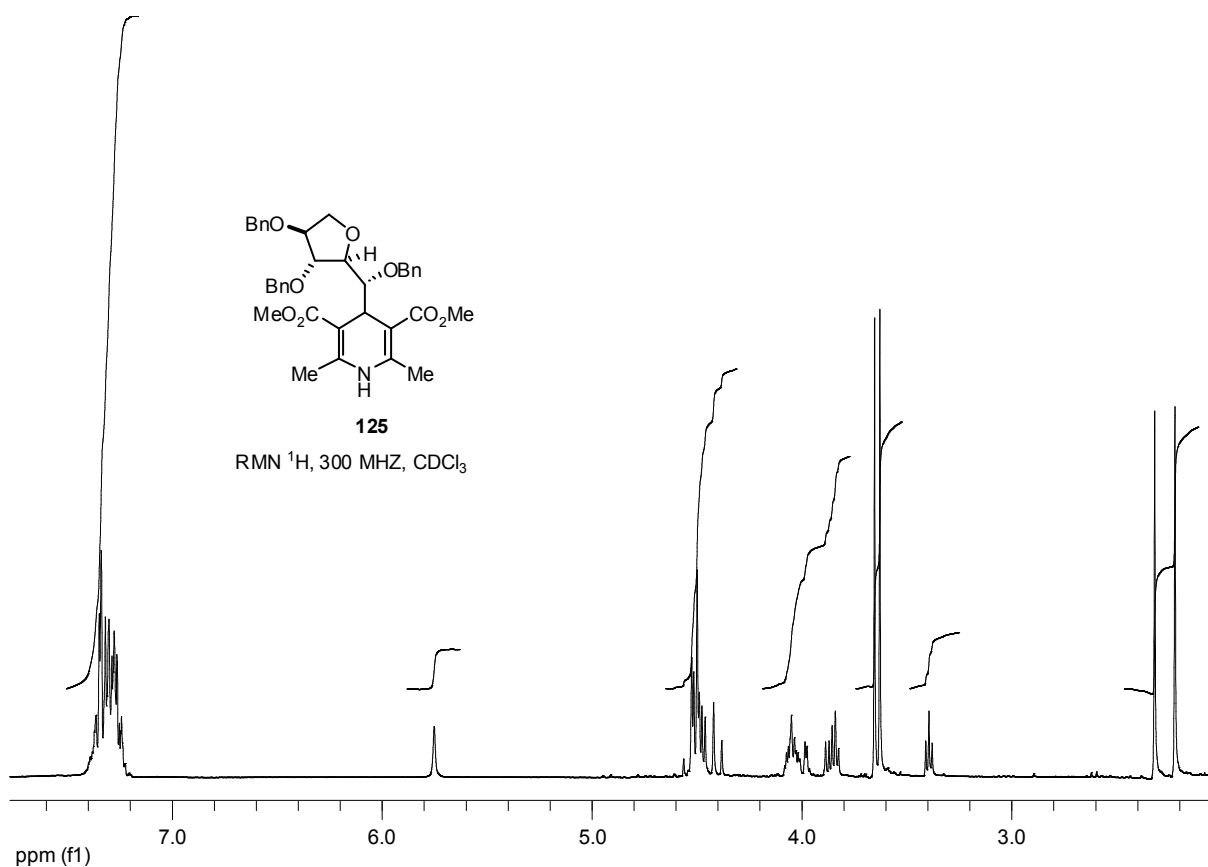
INDEX	PPM	INTEGRATION	NAME
1	7.26	1.00	SOLVENT
2	5.45	1.00	H-1
3	5.35	1.00	H-2
4	5.25	1.00	H-3
5	5.15	1.00	H-4
6	5.05	1.00	H-5
7	4.95	1.00	H-6
8	4.85	1.00	H-7
9	4.75	1.00	H-8
10	4.65	1.00	H-9
11	4.55	1.00	H-10
12	4.45	1.00	H-11
13	4.35	1.00	H-12
14	4.25	1.00	H-13
15	4.15	1.00	H-14
16	4.05	1.00	H-15
17	3.95	1.00	H-16
18	3.85	1.00	H-17
19	3.75	1.00	H-18
20	3.65	1.00	H-19
21	3.55	1.00	H-20
22	3.45	1.00	H-21

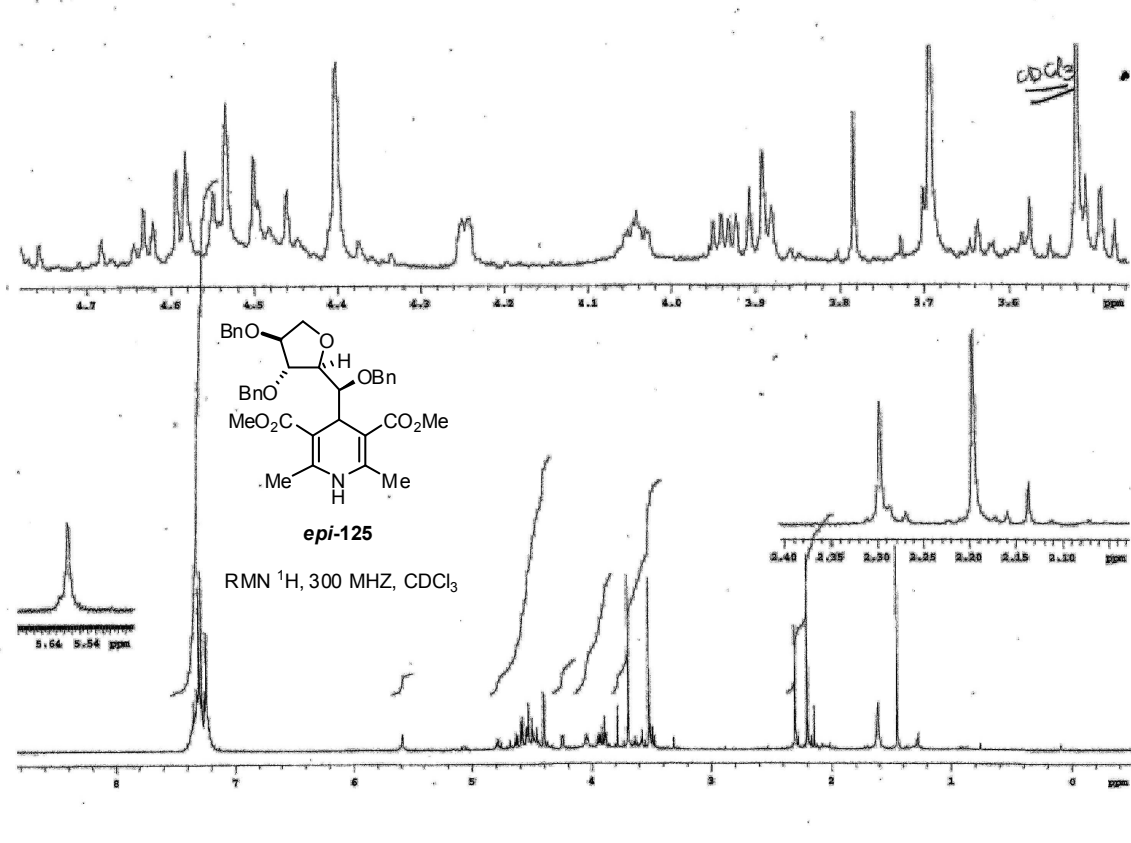




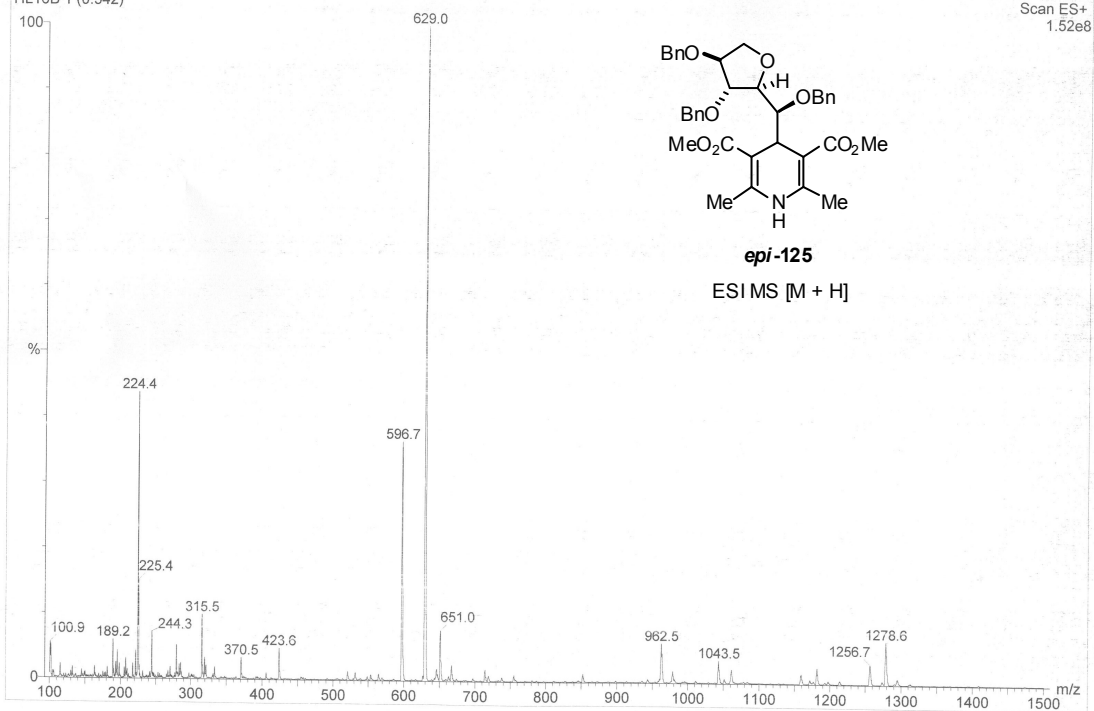


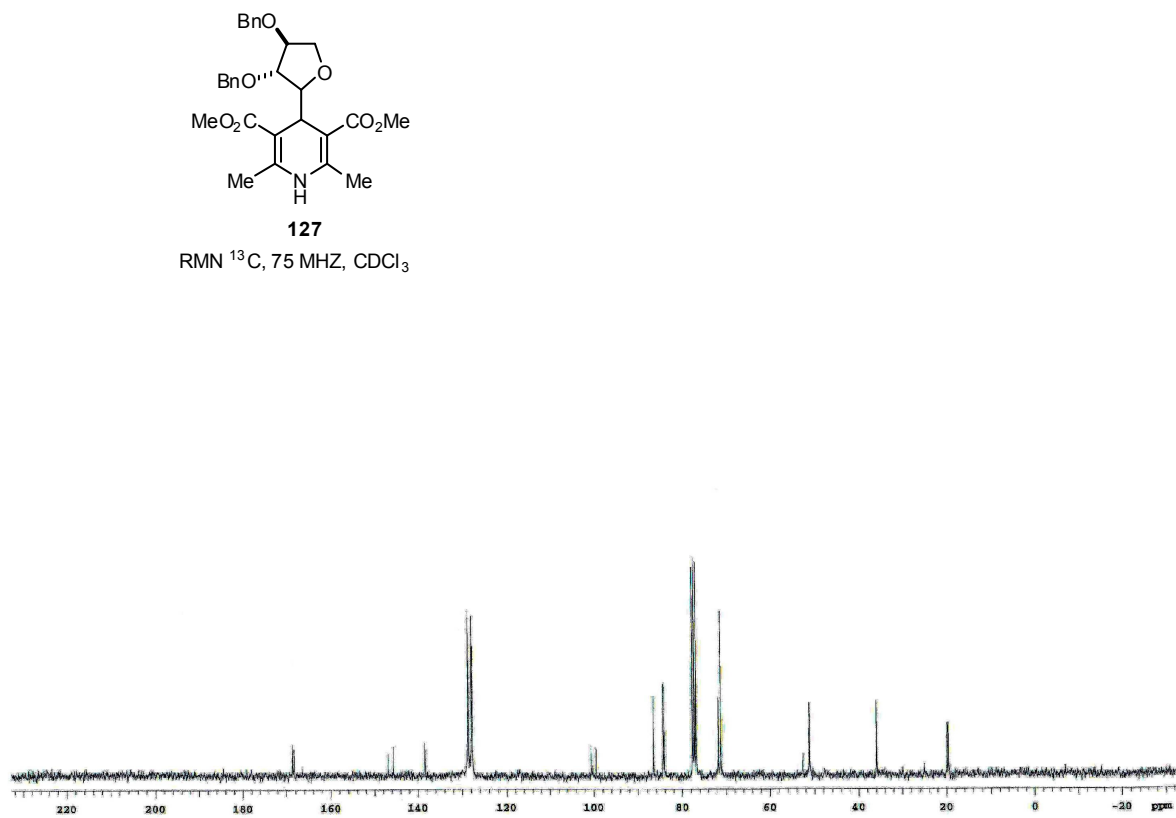
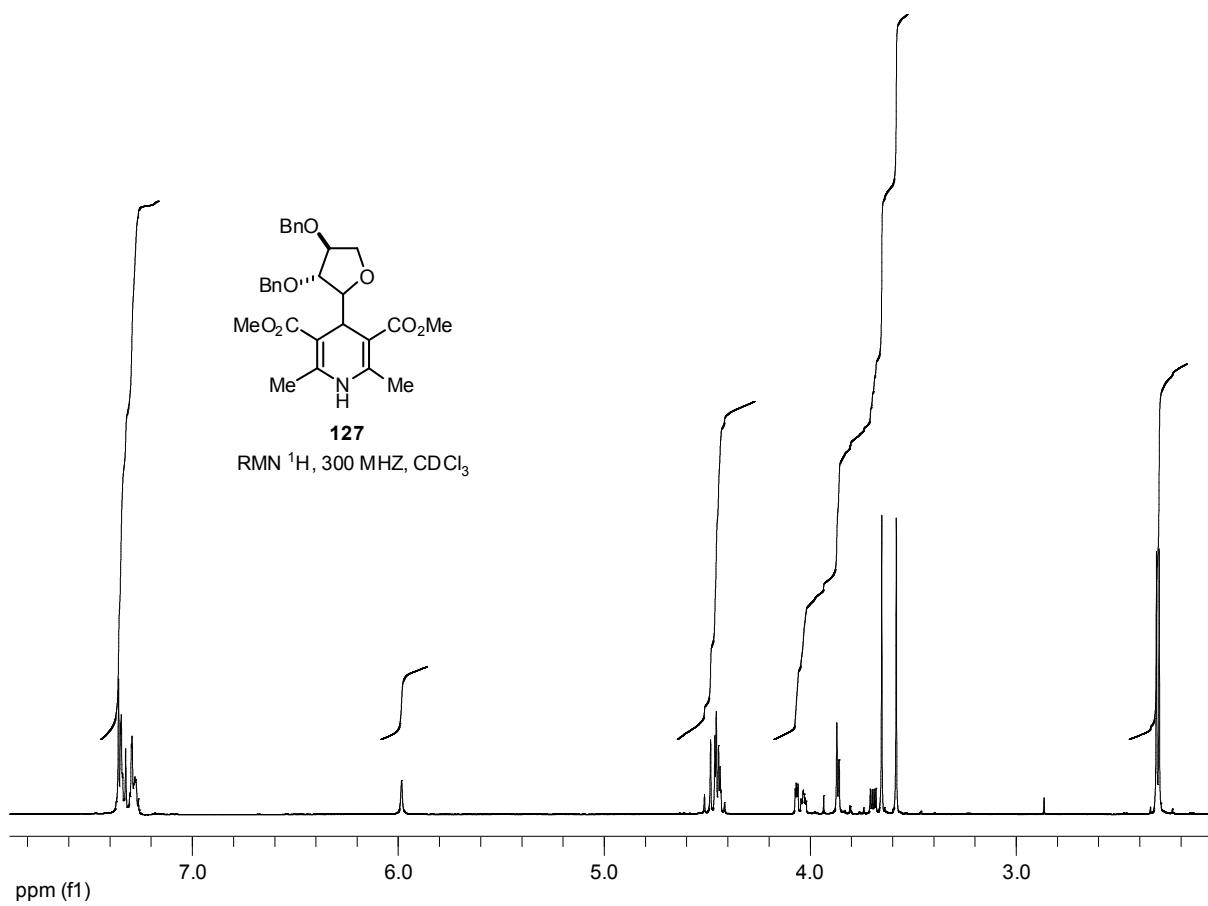


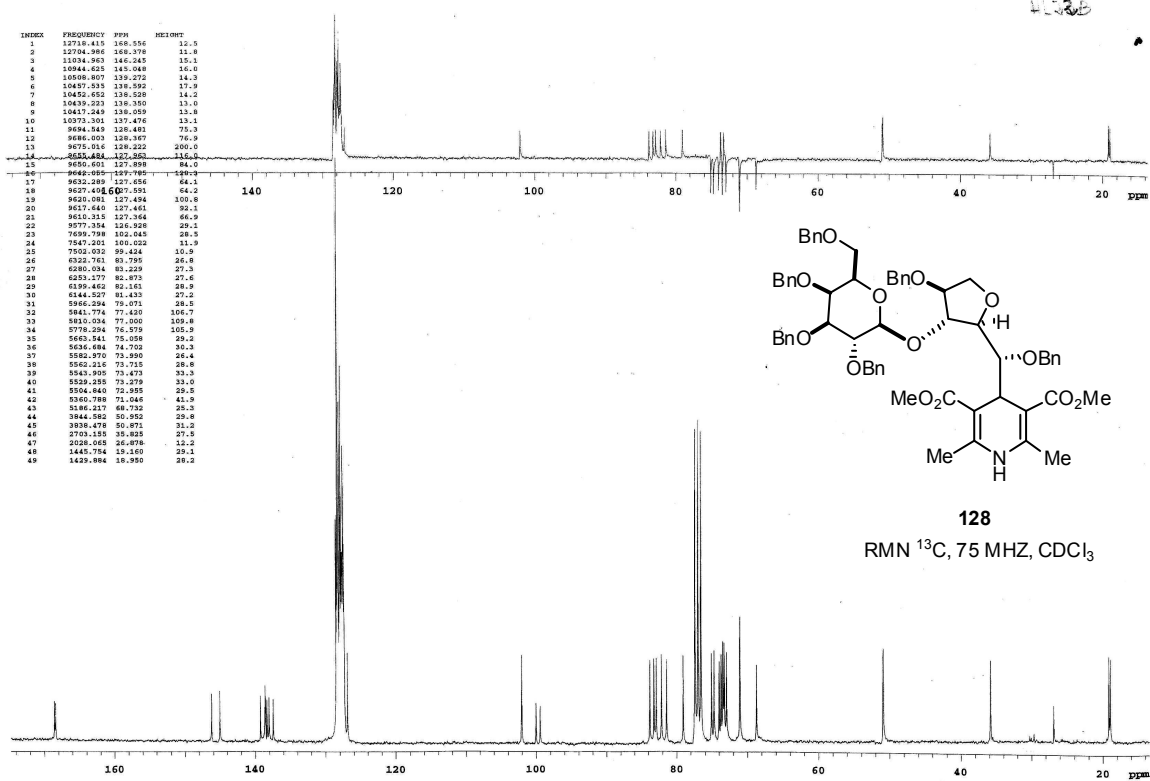
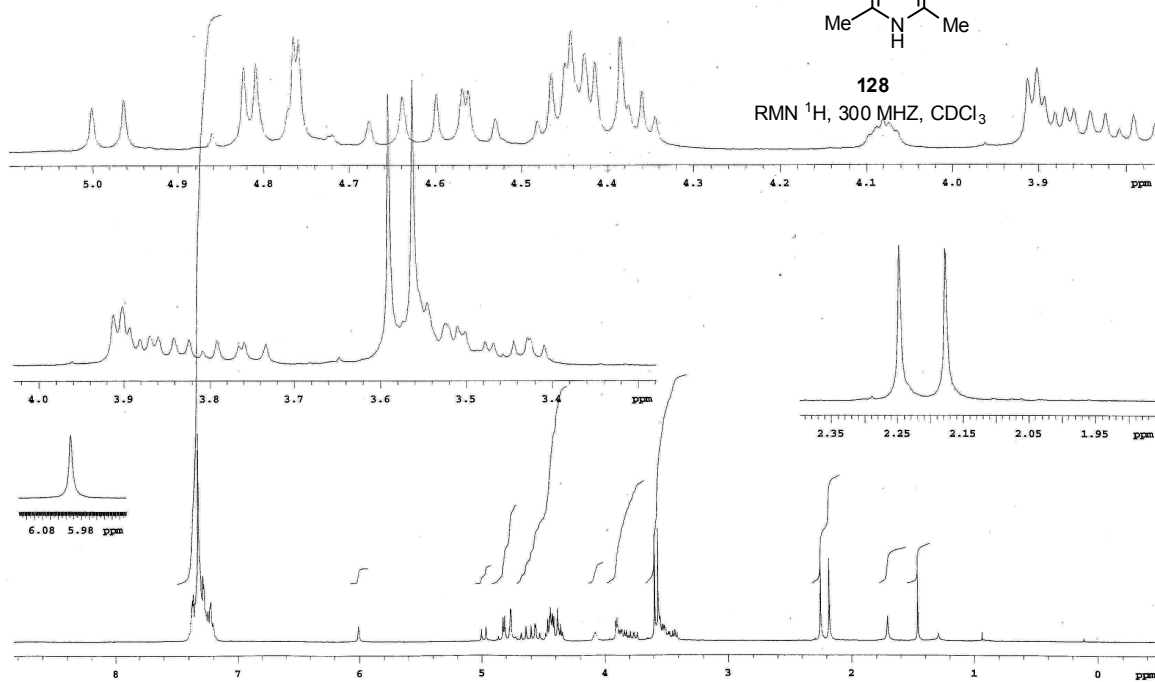


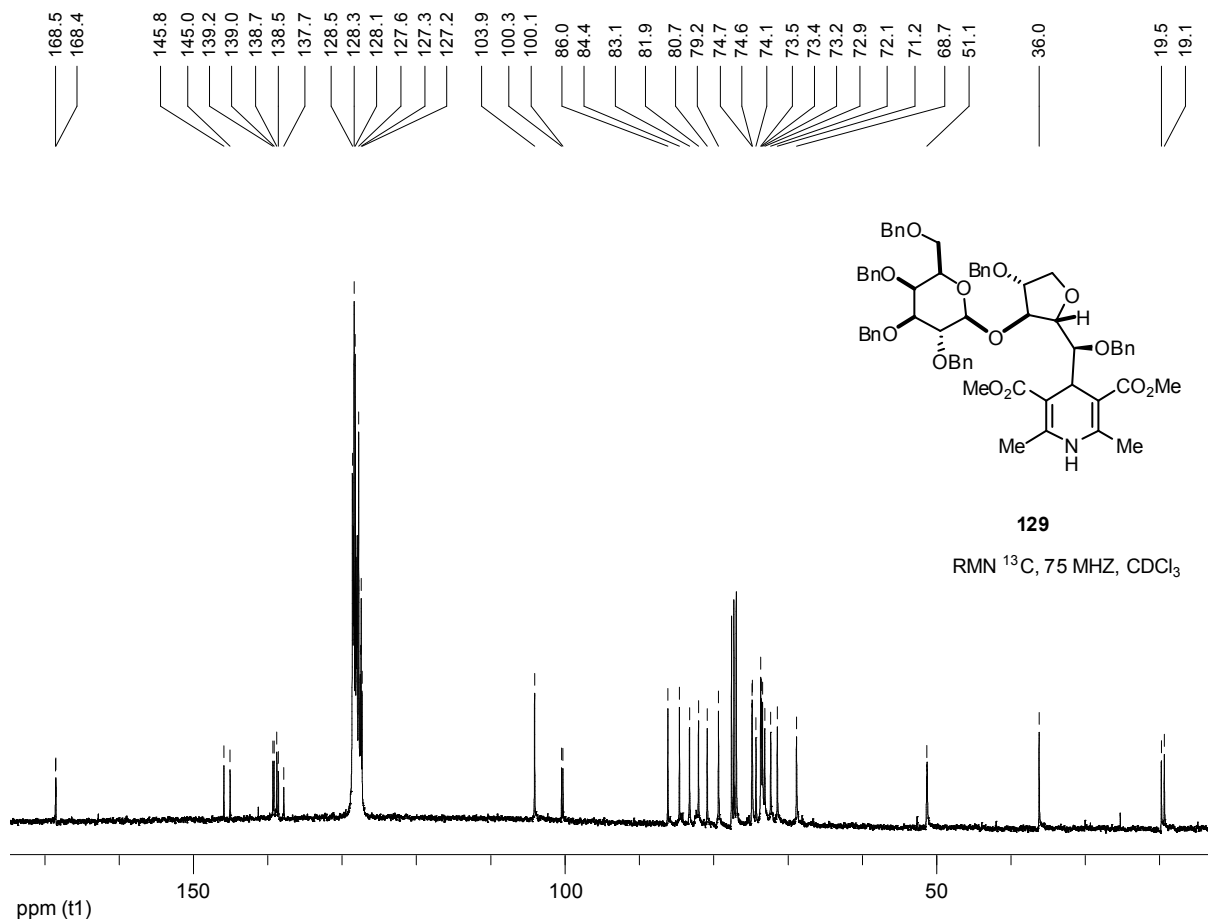
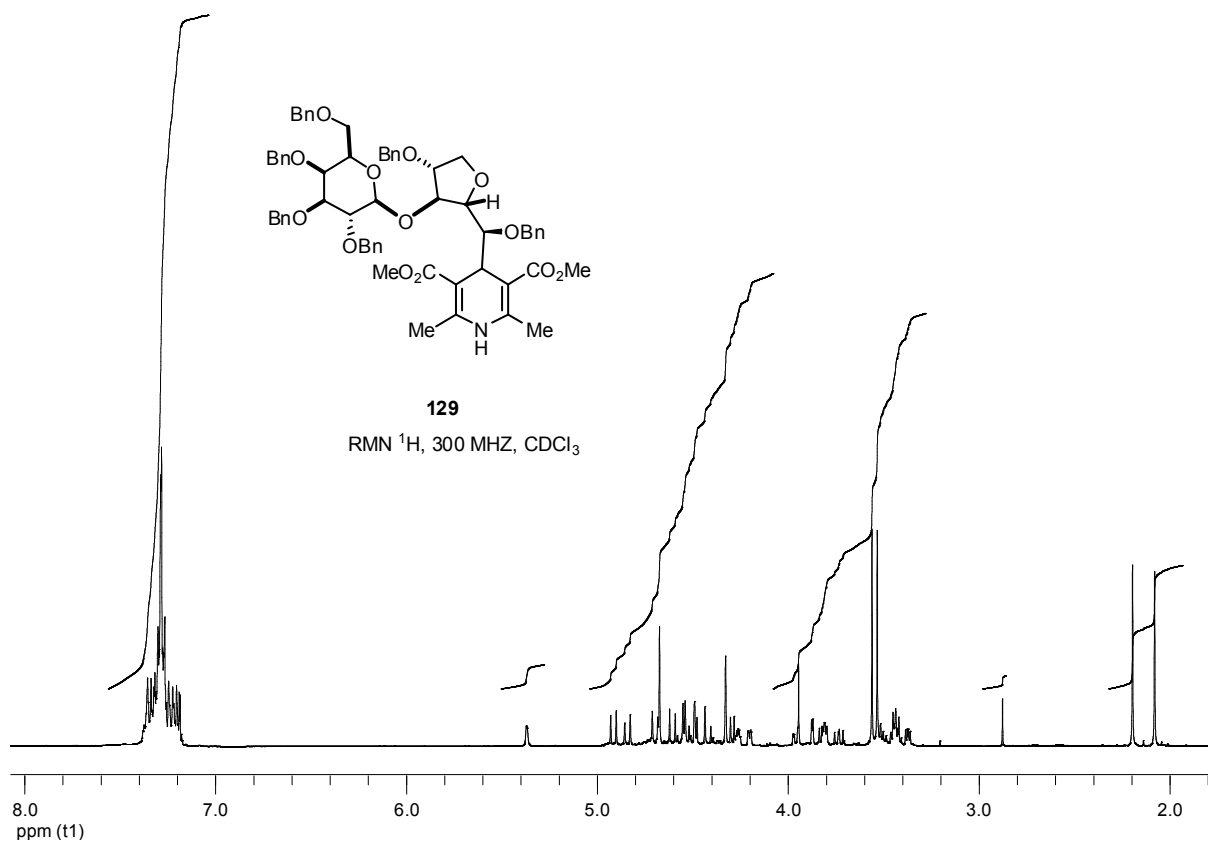


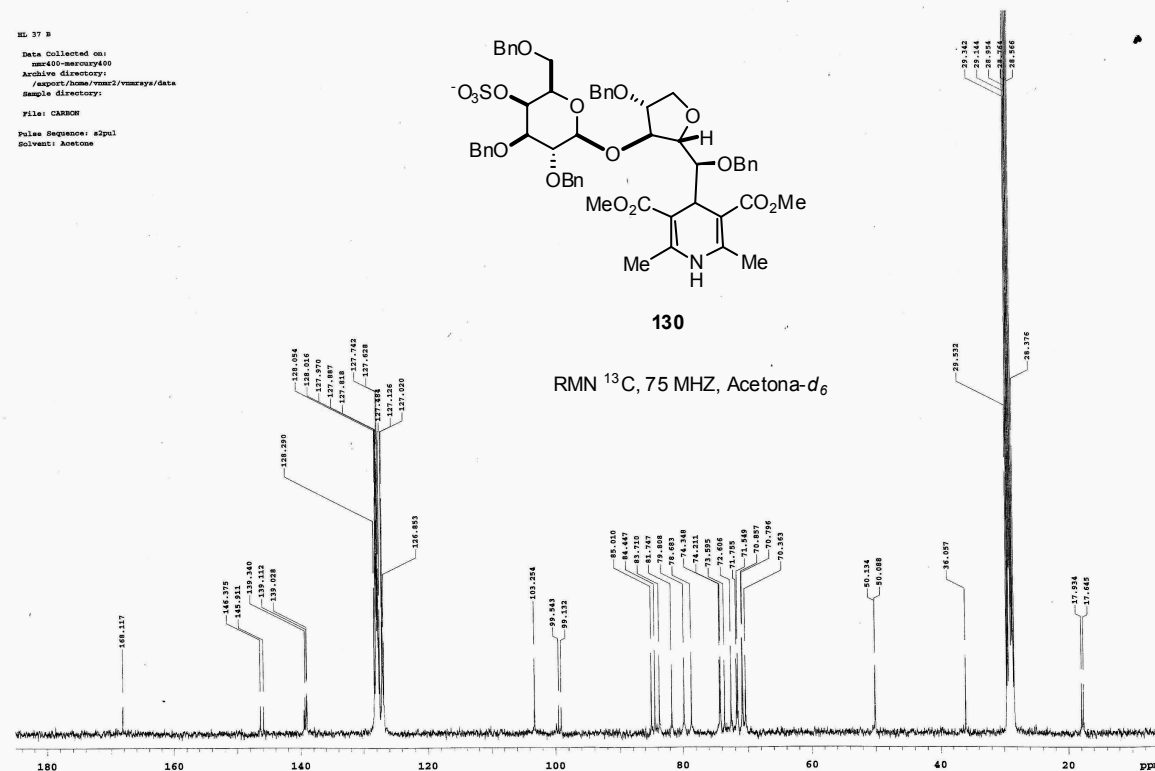
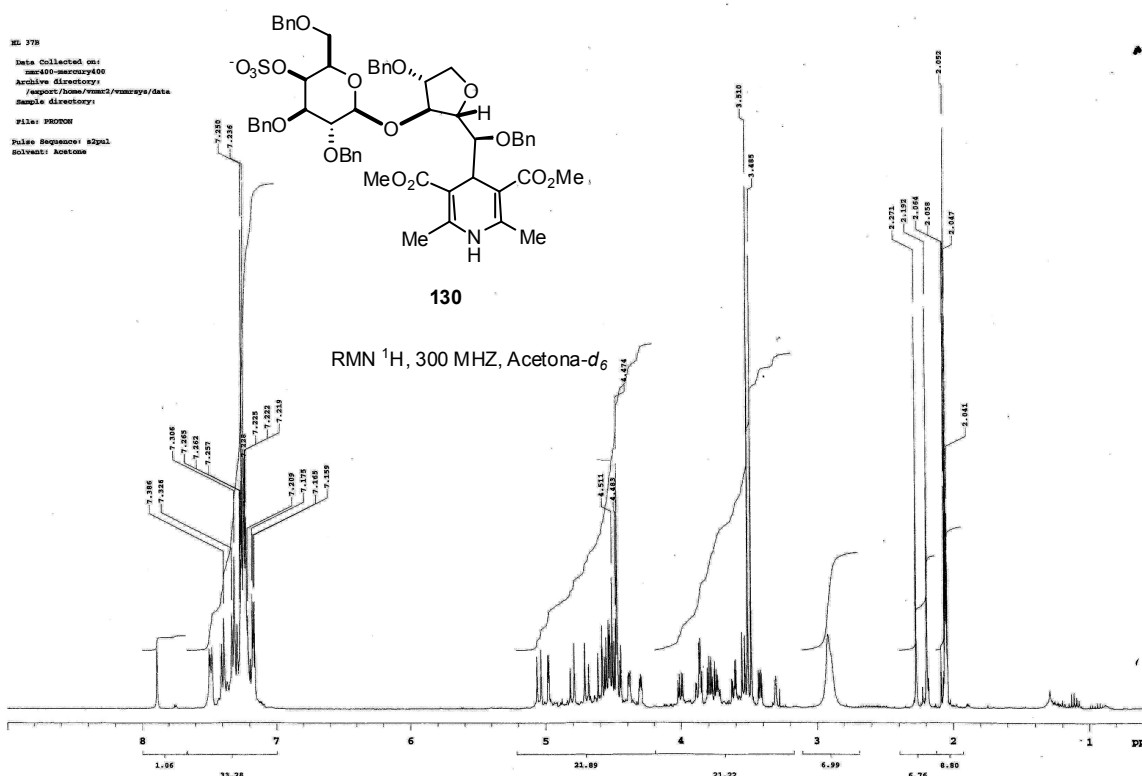
02 09 2008
HL16B 1 (0.542)

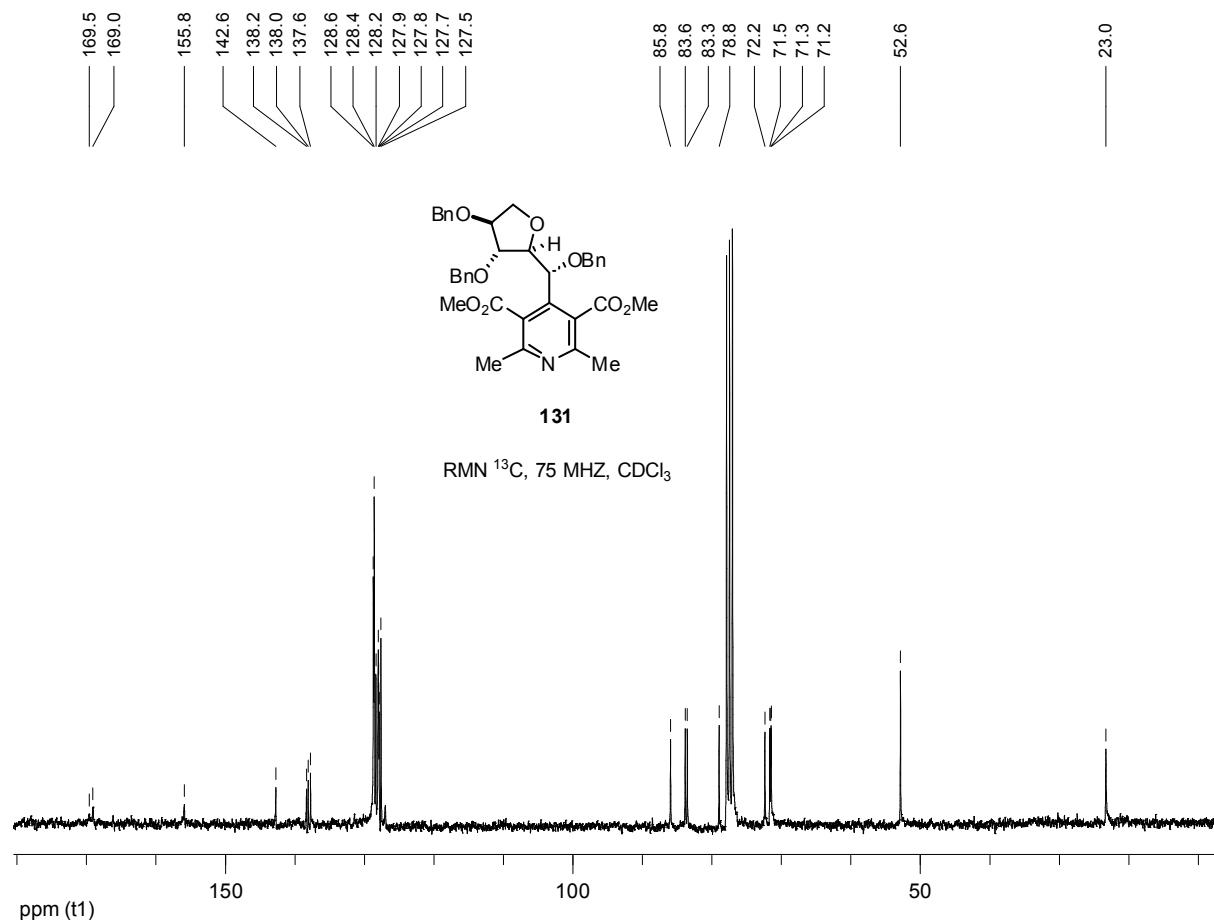
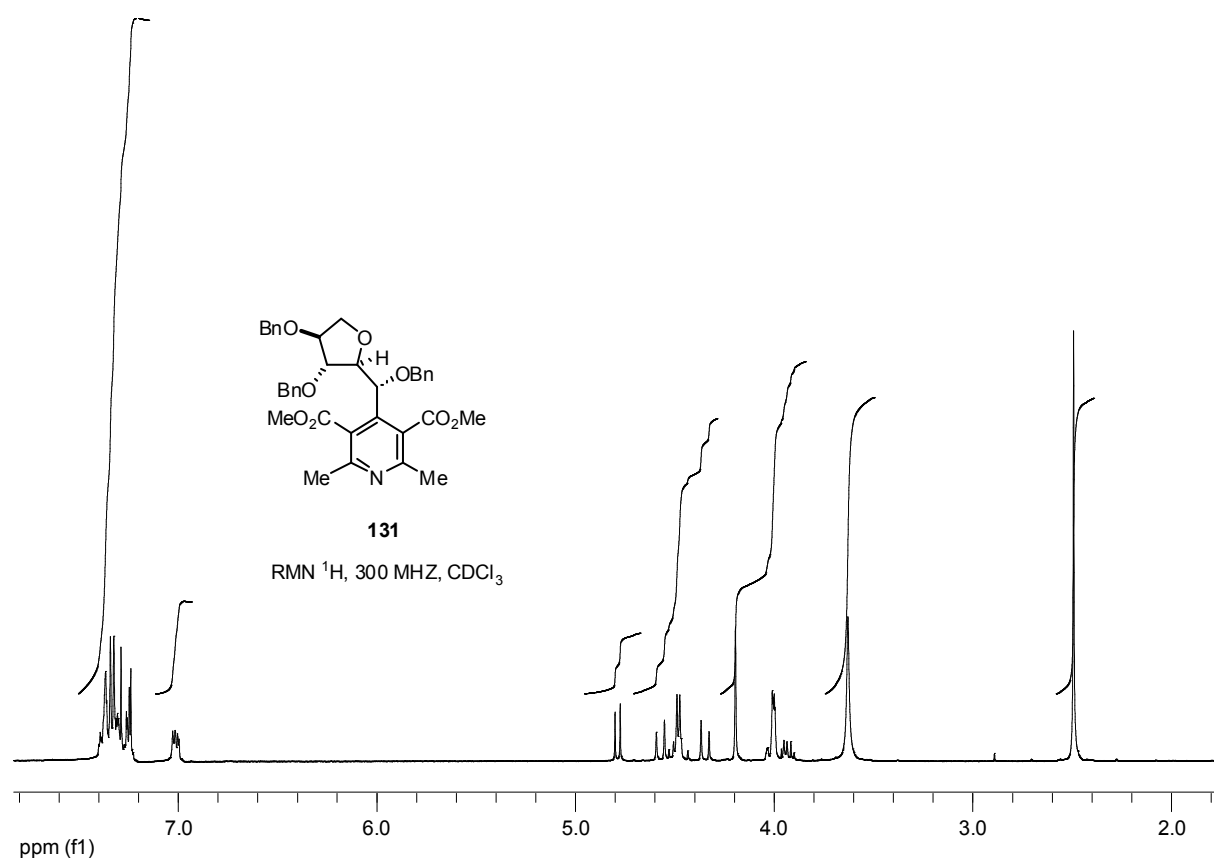


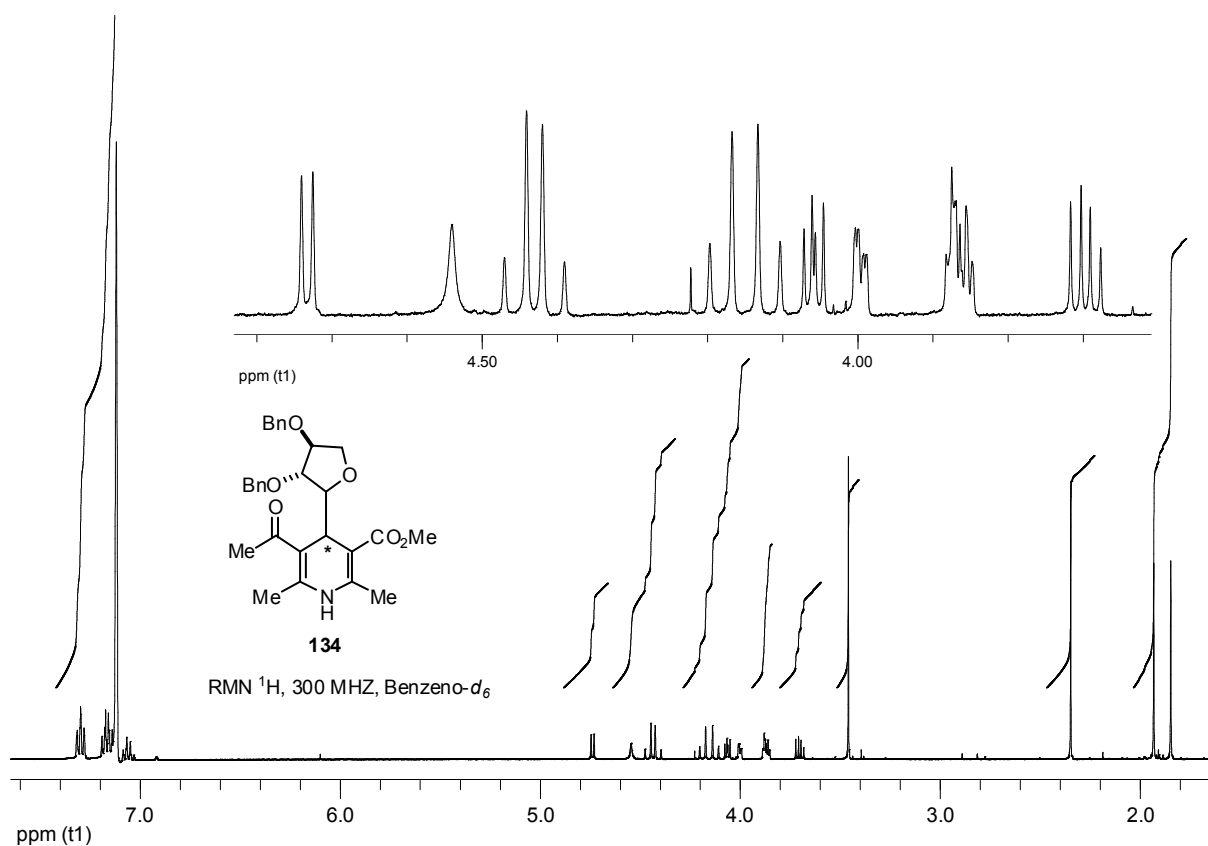








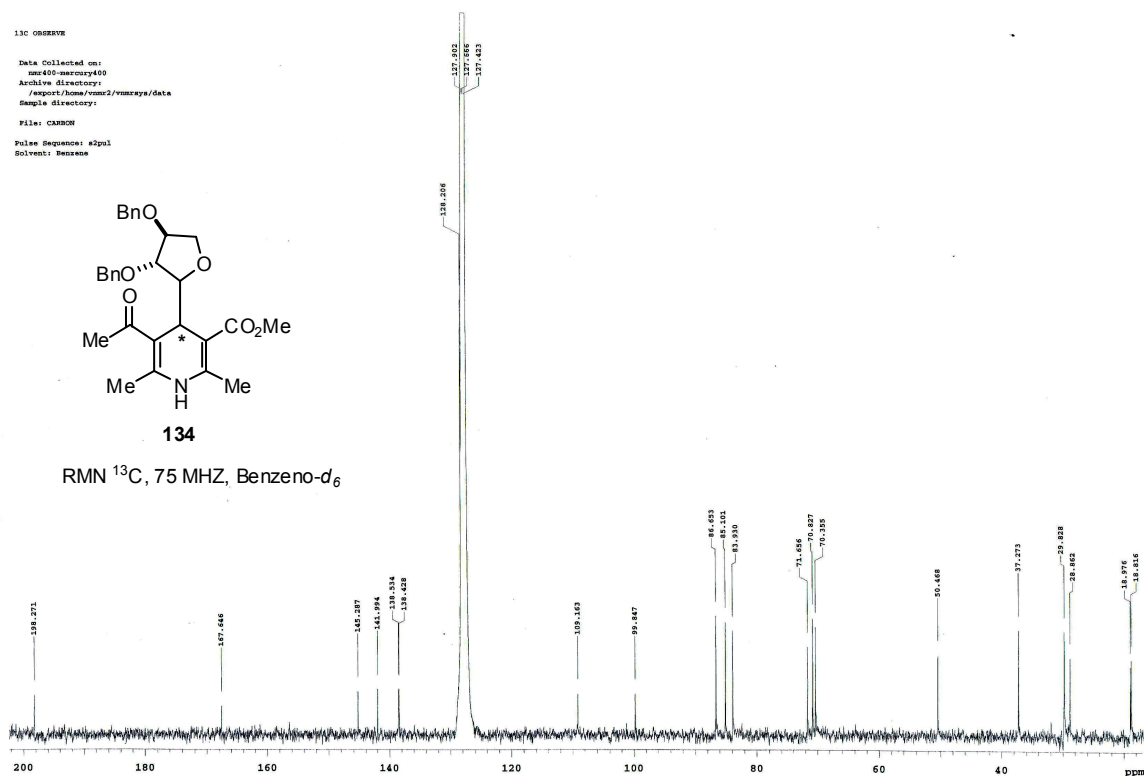




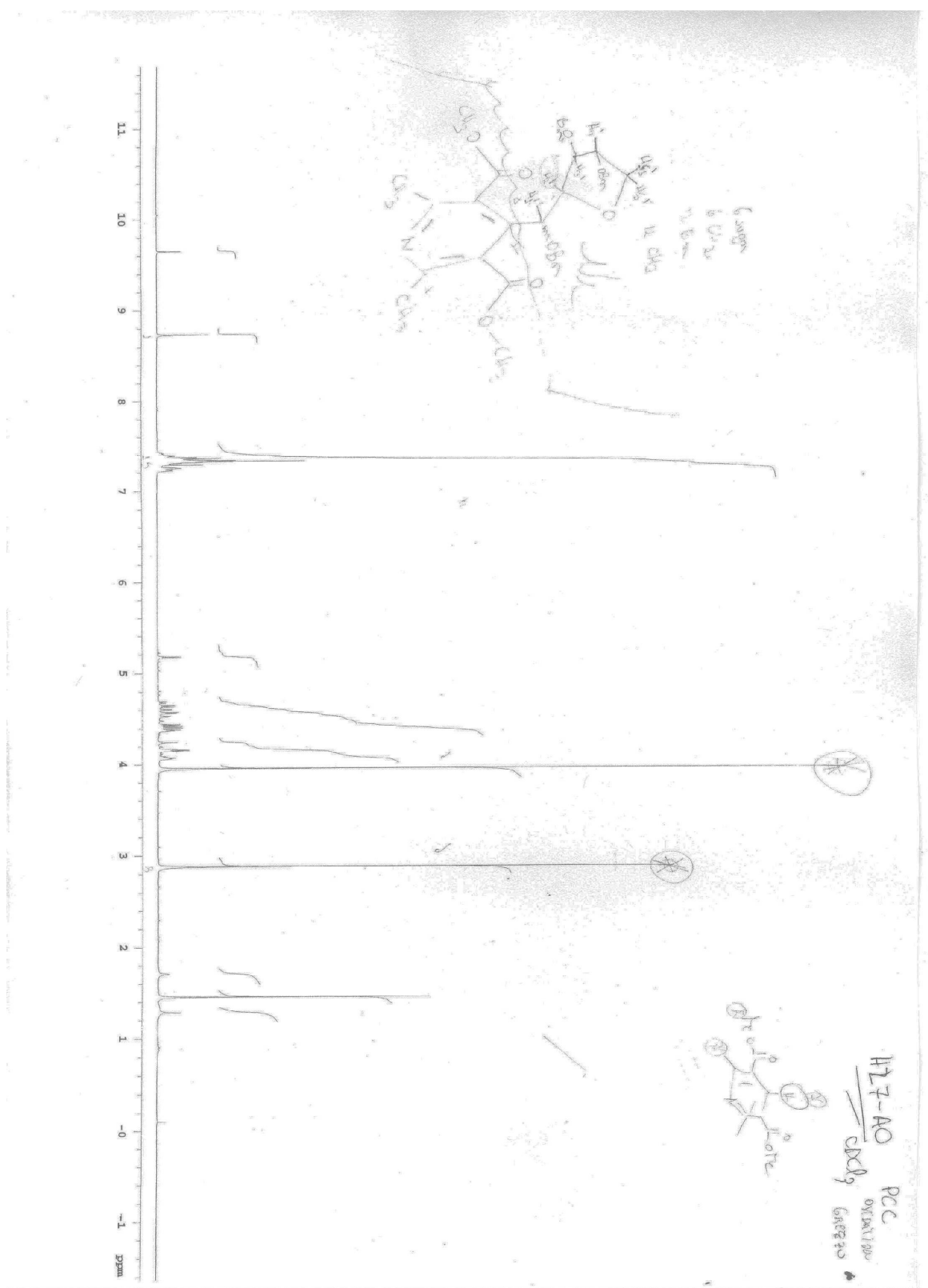
13C OBSERVE

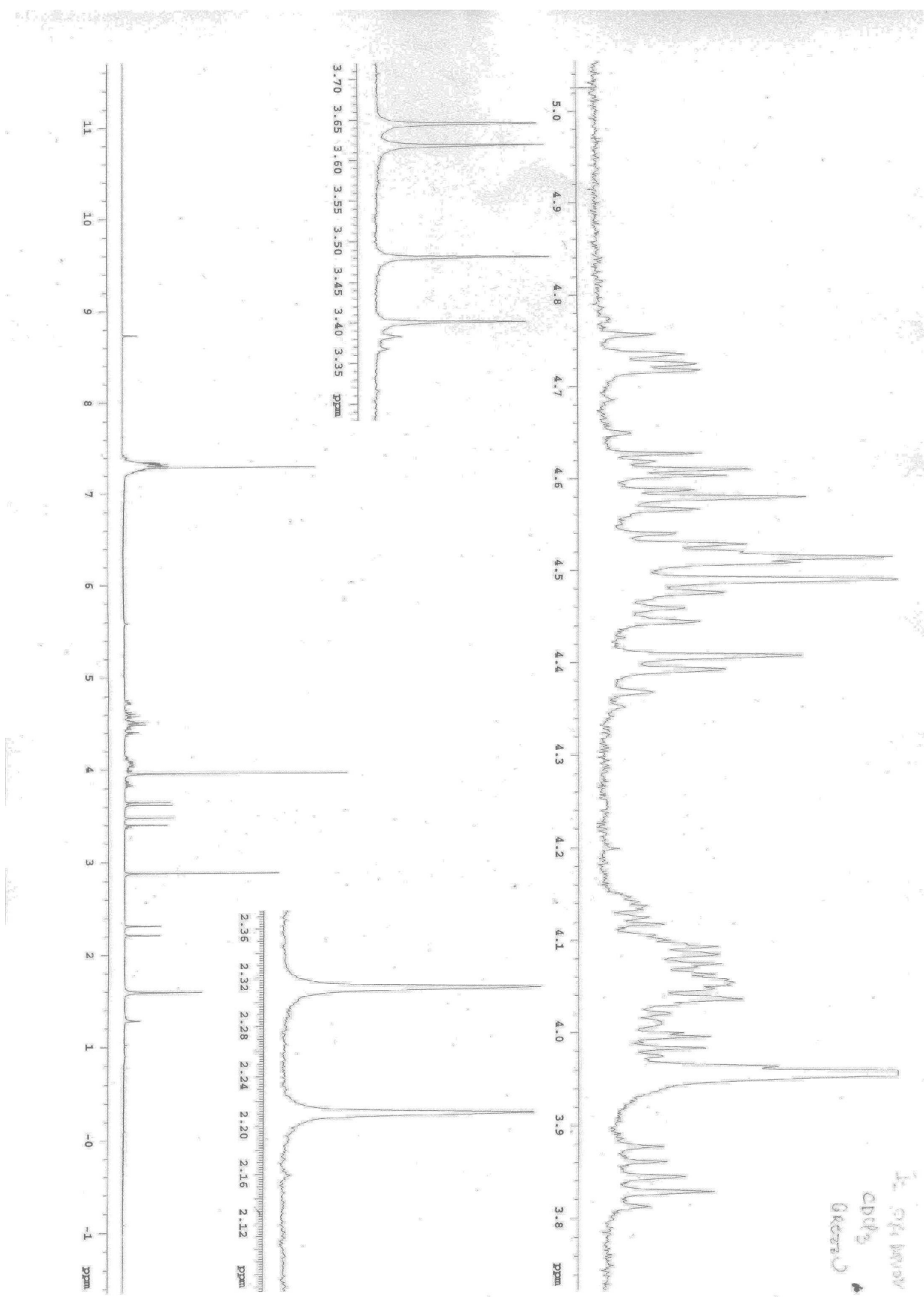
Data Collected on:
 msc400-mecury400
 Archive directory:
 /export/home/vnmr2/vnmrsw/data
 Sample directory:

File: CANNON
 Pulse Sequence: zgpg30
 Solvent: Benzene



Oxidação de **125** com PCC (mistura reacional, RMN ^1H , 300 MHz, CDCl_3)





Oxidação de **125** com DDQ (mistura reacional, RMN ^1H , 300 MHz, CDCl_3)

